

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



Tumores mamários em cadelas e a relação da agressividade tumoral com a  
condição corporal: estudo retrospectivo de 29 casos

ALESSANDRA ROMAN NOBRE

ORIENTADORA:

Doutora Maria Teresa da Costa Mendes Vitor Villa de  
Brito

TUTORA:

Dra. Fernanda Laudizio Henriques

2020

Lisboa

**UNIVERSIDADE DE LISBOA**

**Faculdade de Medicina Veterinária**



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



**Tumores mamários em cadelas e a relação da agressividade tumoral com a  
condição corporal: estudo retrospectivo de 29 casos**

**ALESSANDRA ROMAN NOBRE**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**JURI:**

**PRESIDENTE:**

Doutora Maria Manuela Grave Rodeia Espada  
Niza

**VOGAL:**

Doutora Maria Teresa da Costa Mendes Vitor  
Villa de Brito  
Doutor Jorge Manuel de Jesus Correia

**ORIENTADORA:**

Doutora Maria Teresa da Costa Mendes Vitor  
Villa de Brito

**TUTORA:**

Dra. Fernanda Laudio Henrique

2020

Lisboa

## DECLARAÇÃO

Nome: Alessandra Roman Nobre

Endereço eletrónico: [clivet.ale@gmail.com](mailto:clivet.ale@gmail.com)

telefone: +351 937378164

Número do Cartão do Cidadão: 14059015

Dissertação ☐ Tese ☐

Título: Tumores mamários em cadelas e a relação da agressividade tumoral com a condição corporal: estudo retrospectivo de 29 casos

Orientadora: Maria Teresa da Costa Mendes Vitor Villa de Brito

Tutora: Dra. Fernanda Laudio Henriques

Ano de conclusão: 2020 07-22

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Faculdade de Medicina Veterinária da ULisboa, 3 de Agosto de 2020

Assinatura: \_\_\_\_\_



“Não é sobre chegar no topo do mundo e saber que venceu  
É sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu”

Ana Vilela

## **Agradecimentos**

Muitas foram as pessoas que contribuíram para que esta Dissertação de Mestrado e que se tornasse possível a Equivalência de Diploma em Portugal. Desta forma, gostaria de agradecer:

Às minhas filhas que, mesmo com pouca idade, conseguiram perceber, quanto o possível, que concluir esta etapa da minha vida era um objetivo importante, percebendo que a atenção que nem sempre lhes pude dar em vários momentos, faziam parte deste propósito. Acredito que consegui, de uma forma inconsciente, transmitir-lhes a mensagem importante que desejo que elas levem para o resto da vida: toda a conquista precisa de muito esforço para poder ser alcançada, nada vem com facilidade nas nossas vidas e que precisamos lutar por aquilo que almejamos.

Ao meu marido por enfrentar comigo mais esta batalha, a qual não foi nada fácil para ambos. Foi preciso abdicar de muito para que eu pudesse concluir as disciplinas impostas na equivalência assim como para me dedicar à construção da tese. Também, foi preciso muita parceria para enfrentar todas as dificuldades que todo este processo implicou.

Aos meus queridos pais, por todo o amor, dedicação e apoio ao longo de toda a minha vida. Fizeram de mim a pessoa que sou hoje. Obrigada por acreditarem sempre em mim, mesmo quando eu tinha as minhas incertezas.

À minha irmã Cláudia que foi fundamental com o incentivo e também com o apoio, psicológico e financeiro.

À minha amiga veterinária e professora, Dra. Rita de Cássia Anaya, que foi parceira em todos os momentos da construção da tese. A transmissão dos seus conhecimentos e o seu incentivo para eu nunca desistir nos momentos de desespero e de angústia foram fundamentais. Também, partilhou comigo todos os momentos de felicidade assim como os de tristeza, durante o processo de equivalência do diploma. Portanto não tenho palavras para expressar a importância que tem na minha vida.

À professora Doutora Maria Teresa da Costa Mendes Vitor Villa de Brito em aceitar orientar-me mesmo não me conhecendo. Foi sempre muito prestativa, atenciosa e de extrema agilidade em responder a todos os meus questionamentos e dúvidas.

Agradeço à amiga, Dra. Fernanda Laudio Henrique, por permitir o acompanhamento casuístico do seu Hospital Veterinário e proporcionando-me momentos de muita aprendizagem e de evolução profissional.

À Dra. Inês Romeiras pela revisão gramatical e linguística desta tese e todo o carinho, atenção e esforço em ajudar-me neste processo. Uma amizade que quero guardar para o resto da vida.

## **Resumo:**

### **Tumores mamários em cadelas e a relação da agressividade tumoral com a condição corporal: estudo retrospectivo de 29 casos**

A relação entre a obesidade e as neoplasias tem sido alvo de vários estudos em medicina humana, permitindo a avaliação de determinados fatores que induzem o aumento da predisposição para diversos tipos de tumores, nomeadamente os tumores da glândula mamária (TGMs), assim como o aumento da mortalidade e a diminuição da resposta ao tratamento quimioterapêutico. Em medicina veterinária, essa relação não é, ainda, muito evidente. O objetivo deste estudo foi avaliar se a condição corporal está associada ao aparecimento de TGMs, à sua agressividade e ao tempo de sobrevivência dos animais afetados.

Foram incluídos 29 cadelas com tumores da glândula mamária divididas em dois grupos: grupo obeso (GO) e o grupo não obeso (GNO). Na análise estatística foi utilizado o teste de Fisher (programa Epitools®), e o teste Kaplan Mayer (programa Medcalc® easy-to-use statistical)

Os animais do grupo GO representavam 65,52 % (n=19), com uma média de idade de 11,63 anos ( $\pm$  2,77 anos) em que 83% eram esterilizados. Os animais do grupo GNO, representavam 34,48 % (n=10), com uma média de idade de 10,1 anos ( $\pm$  3,07 anos) em que 17% eram esterilizados. No GO existiu um maior número de TGMs em animais de pequeno porte (n=11) comparativamente com aqueles de médio porte (n=4) e de grande porte (n=3). No GNO existiu uma igualdade de animais de pequeno e médio porte (n=5) e apenas 1 animal de grande porte. Relativamente aos TGMs, 86,21 % (n=25) eram malignos, dentro dos quais 58,62% pertenciam ao GO e 27,59 % ao GNO. No grupo GO os TGMs de grau I foram 4 mas no GNO o número foi superior (n=5). Já nos TGMs de grau II o GO foi constituído por 14 animais enquanto que o GNO teve 3. Apenas 13,79% (n=4) dos TGMs eram benignos, dentro dos quais 10,34% pertenciam ao GO e 3,45% ao GNO. Não existiu significância estatística na associação de TGMs com obesidade ( $p=0,71$ ) e na associação do grau de malignidade em GO ( $p=0,09$ ). O tempo médio de sobrevivência em GO foi de 23 meses ( $\pm$  18,82 meses) e em GNO foi de 30 meses ( $\pm$  27,34 meses) ( $p=0,31$ ).

Neste estudo encontramos um maior número de animais obesos com TGMs e, apesar de parecer existir uma associação entre a obesidade e graus mais agressivos de carcinomas, não o podemos afirmar na medida em que a nossa amostra era pequena e heterogênea. Para avaliar os efeitos deletérios da obesidade nos tumores mamários, são necessários mais estudos nesse sentido.

Palavras-chave: cadela, obesidade, tumores mamários

## ***Abstract***

### **Breast tumors in dogs and the relationship between tumor aggressiveness and body condition: a retrospective study of 29 cases**

The relationship between obesity and neoplasms has been the subject of many studies in human medicine, allowing the assessment of factors such as increased predisposition to some tumors, increased mortality and decreased response to chemotherapy. In veterinary medicine, this correlation is not yet very evident. The aim of this study was to correlate obesity with the development of breast tumors and to assess whether body condition is associated with a prevalence of more aggressive tumors and finally to observe a performance evaluation according to body score.

29 cases of bitches with breast tumors were selected and classified according to: type of neoplasia, degree of aggression, body condition, age, the size, breed and the survival time. The animals were divided into two groups: the non-obese group (GNO) and the obese group (GO). For statistical analysis, the Fisher test was used (Epitools program). For survival analysis, the Kaplan Mayer test was used (Medcalc® easy-to-use statistical software program).

The animals in the GO group represented 65.52% (n = 19), with an average age of 11.63 years ( $\pm 2,77$  years), in which 83,00% were sterilized. The animals in the GNO group represented 34.48% (n = 10), with an average age of 10.1 years ( $\pm 3,07$  years), in which 17,00% were sterilized. In GO there was a greater number of TGM in small animals (n = 11) compared to those of medium size (n = 4) and large animals (n = 3). In the GNO there was an equality of small and medium-sized animals (n = 5) and only 1 large animal. Regarding TGMs, 86.21% (n = 25) were malignant, of which 58,62% belonged to the GO and 27,59% to the GNO. In the GO group the grade I TGMs were 4 but in the GNO the number was higher (n = 5). In the grade II TGMs, the GO was made up of 14 animals while the GNO had 3. Only 13.79% (n = 4) of the TGMs were benign, of which 10.34% belonged to the GO and 3.45% to the GNO. There were no significant values in the association of TGMs with obesity (p = 0.71) and in the association of the degree of malignancy in GO (p = 0.09). The survival time in GO was 23 months ( $\pm 18,82$  months) and in GNO it was 30 months ( $\pm 27,34$  months)(p = 0.31).

In this study we found a greater number of obese animals with TGMs and although there seems to be an association between obesity and more aggressive degrees of carcinomas, we cannot assert this because our sample was small and heterogeneous. Further studies are needed to assess the deleterious effects of obesity on breast tumors.

Keywords: dog, obesity, breast cancer.



## Índice Geral

Agradecimentos .....	i
Resumo:.....	iii
Abstract .....	iv
Índice Geral .....	v
Índice de Figuras.....	vii
Índice de Gráficos.....	viii
Índice de Tabelas.....	ix
Abreviaturas .....	x
Lista de Símbolos.....	xiii
Lista de Anexos.....	xiv
PARTE I – Relatório e atividade do estágio .....	1
PARTE II – Tumores da Glândula Mamária e Factores Associados à Obesidade .....	5
1. Introdução .....	5
2. Factores de risco no desenvolvimento tumoral .....	6
2.1. Factores de risco relacionados com o tecido adiposo .....	8
2.2. Factores nutricionais relacionados com a obesidade e as neoplasias mamárias .....	13
3. Apresentação clínica.....	14
3.1. Exame clínico e diagnóstico.....	15
3.1.1. Biomarcadores .....	16
4. Estadiamento dos tumores da glândula mamária .....	18
4.1. Sistema de classificação dos tumores de glândula mamária .....	19
5. Tratamento.....	21
5.1. Tratamento cirúrgico.....	21
5.2. Terapêutica clínica.....	23
5.2.1. Terapêutica hormonal .....	23
5.2.2. Quimioterapia citotóxica.....	24
5.2.3. Inibidores da tirosina quinase .....	25
5.2.4. Radioterapia .....	26
6. Prognóstico.....	26
Parte III: Tumores mamários em cadelas e a relação da agressividade tumoral com a condição corporal: estudo retrospectivo de 29 casos .....	29

1. Introdução .....	29
2. Objetivos.....	29
3. Materiais e métodos .....	29
3.1. Animais .....	29
3.1.1. Grupo Obeso (GO) .....	30
3.1.2. Grupo não obeso (GNO).....	30
3.1.3. Critérios de Inclusão .....	30
3.1.4. Critérios de Exclusão .....	30
3.2. Análise estatística .....	30
4. Resultados .....	31
4.1. Condição corporal .....	31
4.2 Raças.....	32
4.3. Porte .....	32
4.4. Estado reprodutivo.....	33
4.5. Idade.....	33
4.6. Classificação histopatológica.....	34
4.7. Prognóstico e a correlação com a condição corporal .....	37
4.8. Tempo de sobrevivência .....	37
5. Discussão .....	37
6. Conclusão .....	40
7. BIBLIOGRAFIA .....	42

## ***Índice de Figuras***

Figura 1: Efeito da obesidade na produção de factores de crescimento (Calle & Kaaks, 2004)

Figura 2: Alguns fatores secretados pelo tecido adiposo (Laflamme, 2006)

FIGURA 3 Técnicas de ressecção cirúrgica dos tumores mamários: (I) Lumpectomia; (II) Mastectomia simples; (III) Mastectomia regional; (IV) Mastectomia unilateral. FONTE: Cassali et al. (2017)

## ***Índice de Gráficos***

Gráfico 1. – Classificação e casuística das cirurgias realizadas nos meses de Setembro a Novembro de 2019

Gráfico 2: Comparação de Tumores Malignos e Tumores Benignos acompanhados entre Setembro de 2019 e Novembro de 2019

Gráfico 3: Frequência da condição corporal nos animais diagnosticados com tumores mamários

Gráfico 4: Distribuição de ocorrência relacionado ao porte dos animais

Gráfico 5: Estado reprodutivo e a correlação entre grupo obeso e não obeso

Gráfico 6: Média de idade das cadelas com tumores mamários nos grupos GO e GNO

Gráfico 7: Número de tumores malignos, nos dois grupos estudados, consoante os tipos histológicos de tumores malignos

Gráfico 8: Número de tumores benignos, nos dois grupos estudados, consoante os tipos histológicos de tumores benignos

Gráfico 9: Relação de Tumores malignos de Grau I e a correlação com a condição corporal

Gráfico 10: Relação de Tumores malignos de Grau II e a correlação com a condição corporal

Gráfico 11: Sobrevivência dos animais em estudo, realizado pelo método de Kaplan Mayer

## ***Índice de Tabelas***

Tabela 1: Número de tumores malignos e benignos acompanhados entre Setembro e Novembro de 2019

Tabela 2. Sinais clínicos e provável comportamento biológico (Ferguson, 1985)

Tabela 3. Estadiamento de tumores de origem epitelial de glândula mamária (Withrow et al., 2013)

Tabela 4. Graus histopatológicos do carcinoma mamário de acordo com Elston & Ellis, (1998)

Tabela 5. Grau de Malignidade Histológica dos tumores mamários (Goldschmidt et al., 2011)

Tabela 6. Drenagem linfática normal nas cadelas. (Sorenmo, 2003)

Tabela 7. Técnicas cirúrgicas utilizadas nos tumores mamários na espécie canina. Adaptado de Sleeckx et al. (2011)

Tabela 8. Factores intervenientes no prognóstico de Tumores Mamários em Cães (Sleeckx et al., 2011)

Tabela 9: Raças indentificadas no GO e no GNO.

Tabela 10: Porte no GO e no GNO

Tabela 11: Apresentação dos diferentes tipos histológicos de tumores benignos e malignos

Tabela 12: Nº de tumores benignos e malignos nos grupos GO e no GNO

## **Abreviaturas**

AINES- Anti-inflamatório não esteroide

ANPC - Antígeno nuclear de proliferação celular, *do inglês proliferating cell nuclear antigen (PCNA)*

ASA - Amilóide sérica A, *do inglês Serum Amyloid A(SAA)*

BAX - Gene regulador da apoptose

CCC- Classificação da condição corporal , *do inglês body condition score (BCS)*

CCH – Cancro mamário hereditario, *do inglês hereditary breast cancer (HBC)*

BCL 2 – Células B de linfoma , *do inglês B-cell lymphoma 2 (BCL 2)*

CD 31- Cluster de diferenciação 31

c-KIT- Receptor de proto-oncogene KIT tirosina cinase

CM- Carcinoma mamário

CMC- Carcinoma mamário canino

c-MET- Proto-oncogene MET

COX 2- Cicloxigenase 2

FCE - Fator de crescimento epidérmico, *do inglês epidermal growth factor (EGF)*

FCEV - Fator de crescimento endotelial vascular, *do inglês vascular endothelial growth factor (VEGF)*

FCSI-1 - Fator de crescimento semelhante a insulina – 1, *do inglês insulin-like growth factors 1(IGF-1)*

FCT  $\alpha$ – Fator de crescimento tumoral alfa, *do inglês tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ )*

FCT  $\beta$  - Fator de crescimento transformador beta, *do inglês transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ )*

FCT  $\beta$  1— Fator de crescimento transformador beta 1, *do inglês transforming growth factor beta 1 (TGF $\beta$ -1)*

GLHS – Globulina de ligação a hormonas sexuais, *do inglês sex hormone-binding globulin (SHBG)*

GST1 - Gene supressor de tumor1, *do inglês breast cancer gene 1 (BCRA1)*

GST2 – Gene supressor de tumor 2, *do inglês breast cancer gene 2 (BCRA 2)*

HC- Hormona de crescimento, *do inglês growth hormone (GH)*

IAP-1– Inibidor de ativador de plaminogenio 1, *do inglês plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)*

IHQ- Imunohistoquímica, *do inglês Immunohistochemistry ( IHC )*

IL-1 $\beta$  –Interleucina 1 beta

IL-6 – Interleucina 6

ITQ- Inibidor da tirosina quinase, *do inglês tyrosine kinase inhibitor (TKIs)*

Ki 67 – Proteína celular associada à proliferação celular

L- Linfonodo, do inglês *nodes (n)*

M- Metástase

M1 – Glândula mamária torácica cranial

M2 – Glândula mamária torácica cranial

M3 – Glândula mamária abdominal cranial

M4 – Glândula mamária abdominal caudal

M5 – Glândula mamária inguinal

MAC - Molécula de adesão celular, do inglês *cell adhesion molecules (CAMs)*

miRNA- microRNA reguladores de expressão gênica

N - Número

OMS – Organização Mundial de Saúde, do inglês *World Health Organization (WHO)*

OVH- Ovariohisterectomia

PAAF – Punção aspirativa por agulha fina

P53 – Proteína responsável pela transformação neoplásica e apoptose

PCR- Proteína C Reativa

PLFCSI-1 - Proteína de ligação ao fator de crescimento semelhante à insulina 1, do inglês *insulin like growth factor binding protein 1(IGFBP1 )*

PLFCSI-2- Proteína de ligação ao fator de crescimento semelhante à insulina 2, do inglês *insulin like growth factor binding protein 2(IGFBP2 )*

REs - Receptor de estrogênio, do inglês *estrogen receptor (ERs)*

RFCE – Receptor do fator de crescimento epidérmico, do inglês *epidermal growth factor receptor (EGFR)*

RFCEH2 -Receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano, do inglês *human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)*

RFCSI-1 - Receptor de FCSI -1, do inglês *insulin like growth factor receptor (IG-1R)*

RHs - Receptores hormonais, do inglês *hormone receptors (HRs)*

RIIs- Receptor de insulina, do inglês *receptor de insulina (IRs)*

RL - Receptor da leptina, do inglês *leptin receptor (Obr)*

RM- Ressonância magnética

RP - Receptor de progesterona, do inglês *progesterone receptor (PR)*

RTQ- Receptor da Tirosina quinase, do inglês *receptor tyrosine Kinase (RTK)*

ST- Sobrevivência total, *do inglês overall survival (OS)*

T- Tumor

TAC- Tomografia Axial Computadorizada

TGE - Tumor gastrointestinal estomal, *do inglês gastroIntestinal stromal tumors(GIST)*

TGM- Tumor da glândula mamária

TLD – Tempo livre de doença, *do inglês disease free survival (DFS)*

TMN- Fator de metástase à distância T(tamanho) N (nodes –linfonodo) M (metastase à distância)

TMS - Tempo médio de sobrevivência, *do inglês median survival time (MST)*

TRT- Taxa de resposta terapêutica, *do inglês time in therapeutic range (TTR)*



### ***Lista de Símbolos***

% - Por cento

> - Maior

< - Menor

X – Versus

mg - Miligrama

m<sup>2</sup> – Metro quadrado

kg – Quilograma

cm – Centímetros

### ***Lista de Anexos***

Anexo I- Tabela de condição corporal de cães

Anexo II - Classificação Histológica dos Tumores Mamários (Goldschmidt et al., 2011)

Anexo III- Glândula Mamária canina- ducto normal e evolução de lesões proliferativas.(Goldschmidt et al., 2011)

Anexo IV- Drenagem linfática da cadeia mamária das cadelas

Anexo V – Protocolos Quimioterapêuticos

## ***PARTE I – Relatório e atividade do estágio***

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, foi realizado no Oasis pet – Centro Médico Veterinário, Brasil, com início no dia 13 de Setembro de 2019 e finalizado em 20 de Novembro de 2019, com duração de 500 horas e sob a supervisão da Dra. Fernanda Laudizio Henriques.

O estágio foi realizado no Brasil, onde trabalhei como médica veterinária durante 18 anos e, assim sendo, procurei um estágio que me permitisse aprofundar e expandir os meus conhecimentos teóricos e práticos, uma vez que a medicina interna e a cirurgia de tecidos moles fazem parte da minha rotina profissional há muitos anos.

Neste estágio foi possível aperfeiçoar os meus conhecimentos na área em que tenho um maior interesse, nomeadamente na clínica e na cirurgia oncológica de cães e gatos. Neste sentido, pude participar ativamente nas consultas de especialidade, cirurgias oncológicas, cirurgias reconstrutivas, anestesiologia, quimioterapia, eletroquimioterapia, controlo de dor e eutanásia.

A prática clínica de rotina diária incluía uma reunião no início da manhã para discussão dos pacientes internados, com toda a equipa médica de modo a discutir a evolução dos casos clínicos e adotar novas estratégias de tratamento. Após esta reunião, iniciavam-se as consultas, as consultas de seguimentos de animais em período livre da doença. As sessões de quimioterapia agendadas e as cirurgias eram asseguradas no período da tarde.

Os animais enviados para o serviço de oncologia eram submetidos a exame físico, mas, anteriormente, eram avaliados os exames apresentados pelos tutores no momento da consulta. Quando não havia diagnóstico conclusivo, os animais eram submetidos a exames citológicos ou encaminhados para realização de biópsias ou outros exames complementares com o objectivo de obter um diagnóstico e um estadiamento mais completos para poder planejar o melhor tratamento para o paciente.

Os exames complementares para avaliação normalmente incluíam os exames laboratoriais, hematológicos e bioquímicos. Nalguns casos, era solicitado perfis de coagulação e exames mais específicos de acordo com a suspeita. Os exames de imagiologia como: a radiografia torácica (sempre 3 posições: latero-lateral direita; latero-lateral esquerda e ventro-dorsal), a ecocografia abdominal e a tomografia axial computadorizada (TAC) eram realizados em determinados casos.

Todo o processo de quimioterapia injetável era composto de: preparação de vias e administração de soro, administração de terapêutica de suporte antes da quimioterapia, uso de equipamentos de proteção individual, sendo toda a manipulação dos fármacos realizada em locais apropriados, nomeadamente câmara de fluxo laminar.

Neste período pude acompanhar variados diagnósticos, como: mastocitoma, linfoma, hemangiossarcoma, tumores de célula de transição, leucemia, tumor estromal gastrointestinal (GIST), carcinoma testicular, carcinoma hepático, melanoma oral e cutâneo, tumores mamários, histiocitoma, mieloma múltiplo entre outros, tendo também podido acompanhar diversos tratamentos e várias opções de protocolos de quimioterapia.

As sessões de eletroquimioterapia e de crioterapia fizeram parte de alguns protocolos terapêuticos.

No centro cirúrgico, algumas cirurgias foram realizadas com o auxílio de um médico veterinário patologista (laboratório Cevap), com o intuito de se proceder à biópsia por congelamento. Esta ferramenta está a ser cada vez mais procurada pelos médicos veterinários oncologistas no Brasil, com o objetivo de serem obtidas informações em tempo real (trans-cirúrgico) relativamente às margens cirúrgicas. No momento em que o cirurgião realiza a exérese do tumor, o patologista examina a peça cirúrgica através de uma técnica de congelamento em bloco, sendo capaz de garantir ao cirurgião que a exérese do tumor foi realizada por completo e que as margens estão livres de células neoplásicas. Caso as margens estejam comprometidas, o cirurgião retira mais uma porção de tecido, até que o patologista considere que todo o tecido retirado esteja livre de células neoplásicas. Esta ferramenta evita a realização de novos procedimentos cirúrgicos para ampliação de margens, sendo portanto benéfica, tanto para o animal quanto para o veterinário.

Todos os animais, que eram submetidos à anestesia foram monitorizados até o recobro e acompanhados por exames físicos a cada 15 minutos, tendo atenção a quadros de hipotermia, hipotensão e sinais clínicos de dor. Todos os animais foram acompanhados no pós-operatório por meio de internamento ou reavaliações cirúrgicas, até estarem totalmente recuperados.

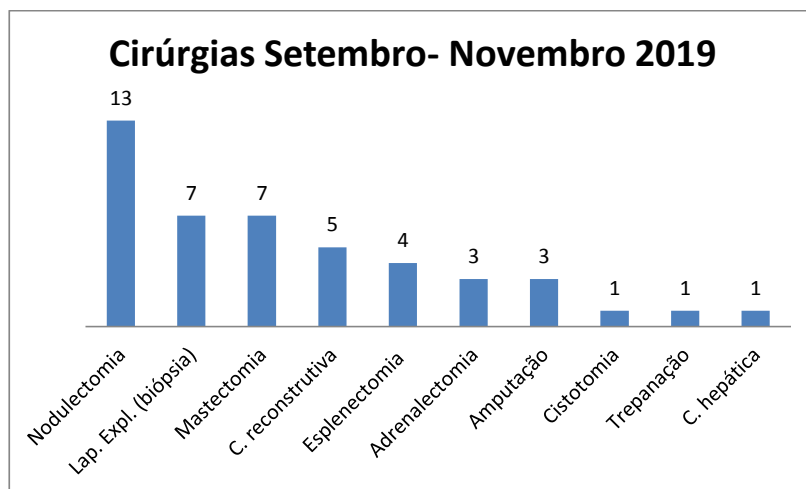
Os animais oncológicos que precisavam de internamento eram acompanhados por veterinários especialistas em medicina intensiva e, ao mesmo tempo, pela oncologista/cirurgiã.

Os animais oncológicos que necessitavam de internamento para além dos que estavam em recuperação cirúrgica, eram em sua grande maioria, animais que apresentavam uma imunossupressão importante após a realização de quimioterapia ou por apresentarem fortes efeitos secundários que necessitavam de terapêutica de suporte ou ainda que precisavam controlo de dor.

Aproveitei este estágio para aperfeiçoar os conhecimentos teóricos e práticos em citologia, participei no processamento de amostras citológicas como descrição do aspeto macroscópico e coloração e montagem de lâminas, observação microscópica de citologias e enquadramento de cada caso no seu contexto clínico.

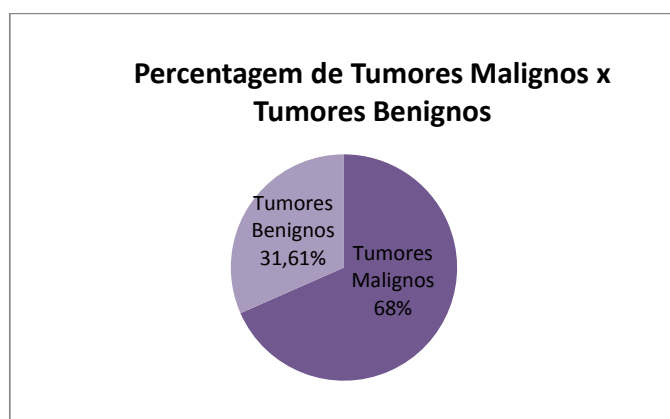
Durante o período de estágio foram realizadas 45 cirurgias (gráfico 1), com maior incidência: as cirurgias de pele (nodulectomias) (n=13), seguidas por mastectomias (n=7), laparotomias exploratórias para recolha de amostras de tecido para posterior análise histopatológica (biópsias n=7), cirurgia reconstrutiva (n=5) esplenectomias (n=4), adrenalectomia (n=3), amputação (n= 3), cistotomia (n= 1), trepanação (n=1), cirurgia hepática (n= 1).

Gráfico 1: Número de cirurgias realizadas no mês de setembro a Novembro de 2019



No período de estágio foi atendido um total de 426 animais no setor de oncologia. A percentagem de casos de tumores benignos e malignos encontra-se no Gráfico 2.

Gráfico 2: Percentagem de Tumores Malignos e Tumores Benignos acompanhados entre Setembro de 2019 e Novembro de 2019



Os diagnósticos eram, na grande maioria, relacionados a tumores malignos. Assim, era necessário um longo diálogo com os tutores a fim de explicar as vantagens e os

inconvenientes dos tratamentos estipulados. O número de lesões malignas e benignas e a respectiva classificação constam na tabela 1.

Este hospital contava com o apoio de uma psicóloga especializada no apoio de tutores e principalmente quando os tutores precisavam tomar decisões sobre a eutanásia do animal em questão.

Tabela 1: Número de casos acompanhados entre Setembro e Novembro de 2019.

Casos Observados					
Tumores Malignos	N	Tumores Benignos	N	Lesões Benignas	N
Linfomas	51	Histiocitoma	20	Hiperplasia Mamária	35
Hemangiosarcoma Cutâneo	37	Adenoma Mamário	17	Hiperplasia esplênica	15
Mestastase Pulmonar	32	Plasmocitoma	16		
Melanoma Cutâneo	30	Mioepitelioma	13		
Mastocitomas	22	Lipoma	10		
Hemangiosarcoma Visceral	15	Hemangioma esplênico	8		
Carcinoma Hepático	11	Fibroma	5		
Carcinoma de Células Escamosas	10	Leiomioma	2		
Neoplasias mamárias	10				
Neoplasia Primária de Pulmão	9				
Osteossarcoma	8				
Melanoma oral	7				
Carcinoma de Células Hepatóides	6				
Fibrossarcoma	5				
Carcinoma de Laringe	5				
Carcinomas de Células de Transição	3				
Feocromocitoma	3				
Leucemia	2				
Neoplasia testicular	2				
GIST	1				
Insulinoma	1				
Mieloma Múltiplo	1				

Comentário [IN1]:

## **PARTE II – Tumores da Glândula Mamária e Factores Associados à Obesidade**

### **1. Introdução**

No homem, a obesidade tem sido associada a um aumento da mortalidade em determinados tipos de neoplasias, assim como a um aumento da agressividade tumoral, a uma diminuição da resposta ao tratamento e a uma taxa elevada de recidivas (Weeth et al., 2007).

A obesidade é caracterizada por alterações da concentração de certas hormonas e pela existência de um estado inflamatório crónico (Romano et al., 2016).

Existem diversos mecanismos na obesidade que podem estar associados a um maior risco de aparecimento de vários tipos de tumores. Dentro destes são de considerar o excesso de tecido adiposo, o aumento das hormonas sexuais, a produção de fatores de crescimento e a hiperinsulinémia crónica (Weeth et al., 2007).

O tecido adiposo secreta várias hormonas, como as adipocitocinas, as quais interferem no balanço energético, no metabolismo lipídico e na regulação da insulina, (Rajala & Scherer, 2003). Na obesidade, estas adipocitocinas estão alteradas (Chandler et al., 2017).

Diversos estudos epidemiológicos, quer em animais quer no homem, sugerem que uma dieta rica em gordura, assim como a obesidade, aumentam o risco de aparecimento de tumores da glândula mamária (TGMs) (Weeth et al., 2007; Tesi et al., 2020). No entanto, outros estudos demonstram que são necessárias mais investigações para elucidar melhor este fator de risco (Sonnenschein et al., 1991).

Apesar de existir um grande número de cães com excesso de peso e obesos, no momento do diagnóstico de neoplasias, as associações entre a obesidade, a taxa de sobrevivência e a resposta ao tratamento não foram completamente avaliados em cães (Romano et al., 2016). Segundo Romano et al (2016), tanto o homem como os animais com neoplasia e uma condição corporal abaixo da ideal têm, geralmente, uma taxa de sobrevivência menor quando são comparados com aqueles que apresentam uma condição corporal ideal. No entanto, existe o "paradoxo obesidade", que está associado a uma melhor sobrevivência em indivíduos com excesso de peso e que apresentam certas doenças crónicas ou agudas, tais como doenças cardiovasculares e doenças metabólicas, e que possuem uma maior taxa de sobrevivência quando comparados com indivíduos que têm um peso ideal, apesar do excesso de peso ser um fator de risco conhecido para o desenvolvimento inicial dessas doenças. Porém, não está claro se este fenómeno está presente em situações neoplásicas (Lennon et al., 2016). No entanto, outros estudos

sugerem o oposto, ou seja, que a obesidade é um fator de risco para o desenvolvimento de diversos tipos de tumores e para um prognóstico mais grave (Sleeckx et al., 2011).

## **2. Fatores de risco no desenvolvimento tumoral**

Os TGMs são as neoplasias mais comuns em cadelas inteiras (Santos et al., 2013). O risco de aparecimento destes tumores nos machos é menor ou igual a 1% em comparação com as cadelas. Estes tumores ocorrem, com maior frequência, em fêmeas entre os 7 e os 12 anos de idade (Daleck et al., 2008). Segundo Withrow, Vail, & Page (2013), os TGMs malignos são muito raros em animais com menos de 5 anos de idade. Sendo assim, o risco de aparecimento destes tumores aumenta com a idade e tornam-se significativamente mais agressivos em animais a partir dos 7 a 8 anos.

Existe uma maior incidência dos tumores mamários em cães de raça pura como o caniche, o chihuahua, o dachshund, o yorkshire terrier, o maltês, o cocker spaniel e, ainda o pastor alemão (Withrow et al., 2013). No entanto, o Norwegian Canine Cancer Register na Europa demonstrou 53,3 % de tumores malignos da glândula mamária existem em cadelas de qualquer raça.

A incidência de tumores é diferente para os cães de pequeno e de grande porte. Normalmente, as raças de grande porte têm naturalmente uma vida mais curta e tendem a serem mais jovens aquando do diagnóstico da neoplasia, do que os animais de pequeno porte (Withrow et al., 2013).

Oberbauer, Belanger, & Famula (2019) concluíram que a esterilização precoce reduz o aparecimento de tumores do trato reprodutivo, como os TGMs e os tumores testiculares. Assim, a ovariectomia (OVH) antes dos 2,5 anos de idade tem demonstrado ter um papel protetor em relação aos tumores mamários (Kristiansen et al., 2016).

As cadelas esterilizadas antes do primeiro ciclo éstrico possuem aproximadamente 0,5% de probabilidade de desenvolver neoplasia mamária. Este risco aumenta para 8% antes do segundo ciclo éstrico e para 26% se a esterilização ocorrer após o segundo cio (Novosad, 2003).

Na glândula mamária existem receptores hormonais que são influenciados pela idade e pelo estado hormonal (inteiros ou castrados). Com efeito, a glândula mamária normal sofre alterações histológicas dinâmicas ao longo do ciclo éstrico. Desta forma, em estro, existem mais receptores hormonais do que os animais castrados, mais velhos ou em anestro (Withrow et al., 2013). Muitos tumores, especialmente os de origem epitelial, expressam RHs, o que sugere uma influência e uma dependência hormonal contínua (Withrow et al., 2013). De facto, a exposição hormonal tem uma importante função no desenvolvimento de TGMs. Segundo Kristiansen et al., (2016) os animais que possuem



mais RHs apresentam uma maior predisposição em desenvolver TGMs malignos quando são comparados com os animais que têm um menor número de RHs. Neste mesmo estudo, foi avaliado os benefícios da OVH em um total de 60 animais, dos quais 31 animais eram inteiros com TGM *versus* 29 animais com TGM e que foram esterilizados no momento da mastectomia, concluíram que os resultados não foram significativamente diferentes no grupo de animais com TGM que não foram esterilizados, sugerindo que o efeito protetor da OVH nos animais que apresentam aumento dos níveis de HRs, não é significativo. Apenas cães RE positivo grau 2 ou com aumento da concentração sérica peri-cirúrgica de E2 representam um subconjunto de cães com carcinomas mamários que provavelmente se beneficiarão de OVH.

Os estrogénios, estão envolvidos no desenvolvimento dos carcinomas das glândulas mamárias, sendo que a maioria dos carcinomas da glândula mamária canina expressam receptores de estrogénio (REs) (Canadas et al., 2019).

A aromatase é a enzima responsável por etapas importantes na síntese de estrogénios. É expressa em vários tecidos, incluindo os fibroblastos adiposos indiferenciados e os TGMs. Um aumento de tecido adiposo na mama de mulheres obesas pode aumentar, localmente, a produção de estrogénios nesta glândula, devido a um número maior de fibroblastos que expressam aromatase. De facto, o estrogénio já é descrito como uma hormona responsável por aumentar o risco de neoplasia (Bulun et al., 2012).

Os estrogénios são promotores de células primárias e para além de regularem a transcrição de vários proto-oncogenes nucleares (Sorenmo, 2003), a duração da exposição às hormonas ovárias, no início da vida, determina o risco de aparecimento de TGMs (Canadas et al., 2019).

Existe uma relação inversa entre a expressão dos REs e a diferenciação histológica. Os TGMs benignos e bem diferenciados são mais positivos para REs, enquanto os tumores anaplásicos indiferenciados têm uma maior possibilidade de serem negativos para REs (Canadas et al., 2019).

A progesterona também aumenta o risco de desenvolvimento de TGMs, quer sejam benignos, malignos ou ambos (Sorenmo, 2003). Está descrito que nas cadelas que são tratadas com progesterona, existe uma maior predisposição para o aparecimento de TGMs (Benakanakere et al., 2006). As progestinas sintéticas, bem como progesterona endógena, podem induzir concentrações plasmáticas excessivas de hormona de crescimento, na cadela, podendo estimular a produção de compostos mutagénicos ou a progressão de TGMs (Mol et al., 2000).

A HC tem efeitos diretos estimuladores sobre o crescimento do tecido mamário, assim como efeitos indiretos através do *insulin-like growth factors 1* (IGF-I) (Mol et al., 1999). A insulina e a IGF-1 desempenham um papel crucial tanto na proliferação celular normal

como também na transformação celular maligna (Hadsell & Bonnette, 2000). Com efeito, as mulheres com menores níveis séricos de IGF-1 apresentam um menor risco de terem TGMs (Cohen et al., 2000). Da mesma forma, estudos feitos com ratos transgênicos que sobreexpressam IGF-1, demonstraram um desenvolvimento anormal da glândula mamária e um aumento da incidência de TGMs, na medida em que o IGF-1 interfere na apoptose e também é um potente mitogêneo para várias linhas celulares dos tumores mamários (K. Sorenmo, 2003).

A sobreexpressão de um outro receptor hormonal, nomeadamente *epidermal growth factor receptor 2* (HER2) é encontrada em 20 a 25% de todos os TGMs na mulher (Hsu et al., 2009). A sua presença tem sido documentada em cadelas e está associada a um comportamento mais agressivo do tumor, a uma maior resistência à terapêutica hormonal e a prognósticos mais graves (Withrow et al., 2013).

Até agora ainda não foram identificadas mutações genéticas que estejam associadas aos vários tipos histológicos de TGMs. No entanto, está frequentemente descrito na mulher uma presença da sobreexpressão do gene p53 (gene supressor de tumor) em neoplasias mamárias, nomeadamente nos carcinomas, mas é pouco estudada a sua correlação com a tumorigénese mamária em cadelas devido à variedade histológica (Muto et al., 2000; Haga et al., 2001).

Também foram estudadas as mutações no gene *breast cancer gene 1* (BCRA1) e no *breast cancer gene* (BCRA2). Estas mutações estão relacionadas com uma elevada incidência de TGMs em certas raças de cães, podendo constituir um componente genético significativo (Rivera & Euler, 2011). Alguns estudos demonstram a existência de níveis reduzidos de BRCA2 em TGMs, o que sugere que uma diminuição da expressão de BRCA2 seja suficiente para contribuir para o desenvolvimento de tumores mamários em cadelas (Thumser-Henner et al., 2020).

Existem outros fatores que também têm importância no desenvolvimento dos TGMs das cadelas e que devem ser avaliados. Dentro destes, estão incluídos a expressão da E-caderina, as conexinas, a cicloxigenase-2 (COX-2), a B-cell lymphoma 2 (BCL-2), a molécula apoptótica BAX e as capsases 8 e 3 (Daleck et al., 2008). Assim, muitas alterações genéticas estão, possivelmente, envolvidas na tumorigénese das glândulas mamárias, apresentando fenótipos diferentes e resultados clínicos distintos (Sorenmo, 2003).

## **2.1. Fatores de risco relacionados com o tecido adiposo**

É sabido que a obesidade está associada a um excesso de armazenamento de lípidios e que, para além disto, o tecido adiposo também produz adipocinas e hormonas

esteróides, incluindo estrogénios. A obesidade afeta a produção desses fatores e está associada a um estado crónico de inflamação de baixo grau, tendo diversos efeitos no desenvolvimento e na progressão de tumores (Zahid et al., 2016)

O peso corporal, especialmente durante a puberdade (9 a 12 meses), possui o efeito de provocar um maior risco de desenvolvimento de tumores da glândula mamária (Alenza et al., 1998). Também a inatividade física e uma alimentação inadequada podem conduzir à obesidade e, posteriormente, a todas as suas consequências nefastas (Calle & Kaaks, 2004).

A obesidade influencia o desenvolvimento, a progressão e o prognóstico dos TGMs, quer no homem quer no cão (Lim et al., 2015; Tesi et al., 2020).

O tecido adiposo tem sido reconhecido como um importante órgão endócrino que secreta um grande leque de factores (Lim et al., 2015). Os adipócitos, em indivíduos obesos, produzem fatores endócrinos, inflamatórios e angiogénicos que afetam as células adjacentes aos TGMs (Li & Han, 2018).

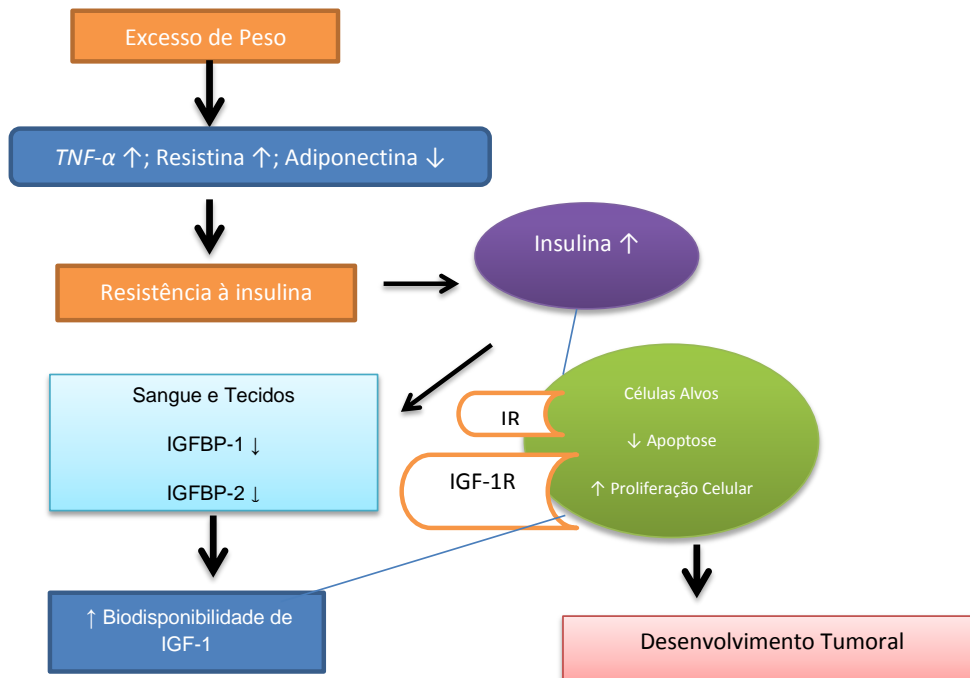
As adipocinas são proteínas secretadas pelo tecido adiposo branco, com diversas funções metabólicas e endócrinas que participam da inflamação e na resposta do sistema imunitário (Costa & Duarte, 2006). Quando o adipócito ou outra célula produtora de adipocina é estimulada, são desencadeados inúmeros sinais de inflamação que induzem a expressão e secreção de diversas proteínas de fase aguda e mediadores da inflamação.

Os indivíduos obesos apresentam grandes quantidades de adipocinas inflamatórias em circulação, o que indica que a obesidade é uma inflamação crónica (Coppack, 2001).

Na obesidade, os aumentos do TNF- $\alpha$ , da resistina e a libertação reduzida de adiponectina levam ao aparecimento de uma resistência à insulina acompanhada de hiperinsulinemia crónica. Os níveis elevados de insulina, por sua vez, reduzem a síntese hepática da proteína de ligação ao IGF-1 (IGFBP-1) e a sua síntese tecidual, ocorrendo, consequentemente, uma redução da concentração desta proteína na circulação sanguínea. O aumento das concentrações séricas de insulina, em jejum, está geralmente associado a níveis reduzidos de IGFBP2 no sangue. Devido a estas alterações existem concentrações aumentadas de IGF-1 biodisponível em circulação. A insulina e o IGF-1, através dos receptores de insulina (RIs) e dos receptores IGF-1 (IGF1R), respectivamente, promovem a proliferação celular e inibem a apoptose em diferentes tecidos. O IGF-1R tem uma sobreexpressão no tecido tumoral, em cerca de 90% dos casos de neoplasia mamária (Hadsell & Bonnette, 2000).

Estes efeitos podem contribuir para a tumorigénese (figura 1) (Calle & Kaaks, 2004).

Figura 1. Efeito da obesidade na produção de factores de crescimento (Calle & Kaaks, 2004)



Para além da síntese da adipocinas ser regulada por factores inflamatórios como os lipopolissacáridos, existem outros factores, como as catecolaminas, a insulina e o cortisol que também intervêm na sua regulação (Hamper, 2016).

Dentro das adipocinas secretadas pelo tecido adiposo destacam-se a leptina, a adiponectina, o *tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ), as interleucinas IL-1 $\beta$  e IL-6. Enquanto que a leptina, o TNF- $\alpha$ , a IL-6 e a resistina são descritos como possuindo uma acção pró-inflamatória, por outro lado a adiponectina é considerada como tendo um efeito anti-inflamatório (Hamper, 2016).

No tecido adiposo mamário, as adipocitocinas podem interagir com os estrogénios, com glucocorticoides com a leptina, com o IGF-1 e a insulina, e assim proporcionar um microambiente favorável à sobrevivência e ao crescimento de células tumorais mamárias (Jardé et al., 2009). Para além destas ações, as adipocitocinas também podem exercer os seus efeitos nas células adjacentes ao tumor mamário, por via endócrina, parácrina e autócrina, ativando mecanismos que promovem a progressão maligna do tumor mamário (Li & Han, 2018)

Os efeitos das adiponectinas nas células neoplásicas mamárias dependem dos receptores de estrogénio. Assim, quando as células neoplásicas são negativas para REs, ocorre a sua supressão, falta de crescimento, surge apoptose e, conseqüentemente existe

uma inibição da sua proliferação, invasão e migração para outros tecidos (Takahata et al., 2007; Nakayama et al., 2008; Christodoulatos et al., 2019)

Quando existe um excesso de tecido adiposo, existe uma grande diminuição da concentração de adiponectina em circulação (Ishioka et al., 2006). Assim, um nível reduzido de adiponectina circulante aumenta o risco de aparecimento de TGMs em mulheres obesas na pós-menopausa (Mantzoros et al., 2004).

A leptina também é considerada uma hormona como adipocina e é produzida e secretada na circulação, principalmente pelo tecido adiposo. O aumento de leptina tem sido associado aos TGMs, à sua agressividade e, ainda, a um mau prognóstico. A leptina estimula o crescimento de células epiteliais mamárias normais e das células tumorais, estimulam a invasão tumoral e, também, a angiogénese (Jiménez et al., 2019). Parece que a leptina promove a carcinogénese do tecido mamário através de sua interação com o *leptin receptor* (ObR) (Laud et al., 2002).

A resistina, é um outro fator que tem expressão alta nos tecidos tumorais mamários e os seus níveis séricos parecem estar intimamente relacionados com o tamanho e o estadiamento do tumor, como o envolvimento de linfonodos, as metástases e a inflamação (Li & Han, 2018).

A inflamação foi recentemente reconhecida como um importante fator na fisiopatologia dos tumores (Jiménez et al., 2017).

As citocinas pró-inflamatórias, normalmente libertadas pelos macrófagos, podem induzir fenótipos anormais quando são produzidas por longos períodos, tal como nas inflamações crónicas. Já foi descrito que nos tumores mamários existem níveis aumentados de IL-1 $\beta$  (Bartsch & Nair, 2006).

A IL-1 $\beta$  é uma citocina de sinalização que inicia a produção de outros mediadores inflamatórios na oncogénese, no crescimento e na invasão tumoral. Os efeitos moleculares da IL-1 $\beta$  no tecido tumoral é muito variável e incluem uma sinalização anti-apoptótica e, também, uma transição de epitélio celular para um fenótipo invasivo mesenquimal (Dinarelli, 2014).

A IL-6 é uma citocina que desempenha papéis importantes na resposta imunitária, na inflamação e na hematopoiese (Ahmad et al., 2018). A IL-6 é produzida por várias células, como os monócitos e macrófagos, mas também está expressa em vários tipos de tecidos tumorais. Assim, esta citocina pode desempenhar um papel importante no comportamento do tumor, tal como a apoptose, a proliferação celular de crescimento tumoral, a migração e a invasão, a angiogénese e as metástases (Ahmad et al., 2018).

Os TGMs são muito heterogénios e vários fatores contribuem para o seu desenvolvimento e para a sua progressão. O receptor do TNF- $\alpha$  está presente nas células epiteliais e nas células estromais e apresenta-se no microambiente circulante, podendo

promover diretamente a proliferação tumoral e a sobrevivência das células neoplásicas (Mantovani, 2009). O TNF- $\alpha$  e o TNF- $\beta$  estão envolvidos em todas as etapas da tumorigênese (Balkwill, 2009). O TNF- $\alpha$  e TNF- $\beta$  são sintetizados pelos macrófagos ativados e têm papel nas vias imunorregulatórias, causando caquexia neoplásica (Thriveni et al., 2018). O TNF- $\alpha$  desempenha um papel importante na inflamação, na diferenciação celular, na proliferação e na resposta imunitária (Hayashi et al., 2013).

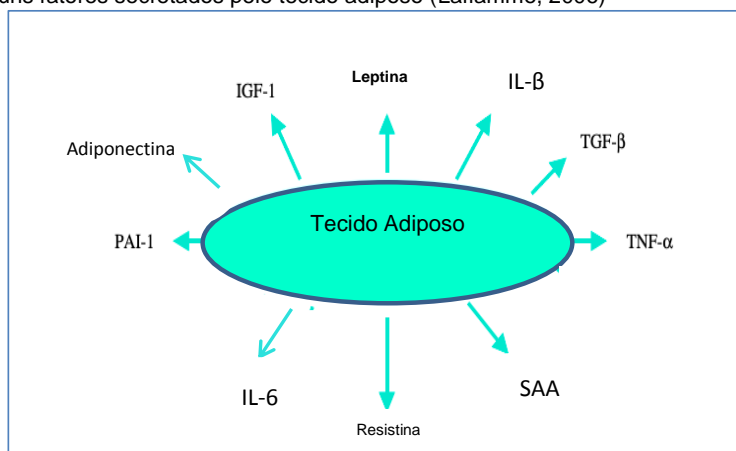
O inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1 é, também, sintetizado pelo tecido adiposo e existem concentrações elevadas no tecido tumoral de carcinomas mamários. Assim, parece que o *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1) está associado a uma progressão mais agressiva da doença, com um aumento do risco de recidivas e com menores taxas de sobrevivência (Völker et al., 2018).

A amilóide sérica A é uma proteína de fase aguda que é encontrada em tecidos cancerígenos. Contudo, a sua expressão e o seu valor prognóstico na neoplasia mamária não estão bem esclarecidos, parecendo que os seus níveis elevados podem estar associados a uma pior sobrevivência e maior probabilidade de recorrências (Yang et al., 2016).

O fator de crescimento transformador-beta funciona como um potente inibidor da proliferação e indutor de apoptose nos estágios iniciais da neoplasia mamária, mas, por outro lado, promove uma maior agressividade da neoplasia nos estadios mais avançados (Larrosa et al., 2011)

Assim, a interação entre o tecido adiposo e as células epiteliais mamárias, quer normais quer neoplásicas, através da secreção de adipocinas, a interleucina-6 (IL-6), a leptina, a adinopectina, o IGF-1, o TNF- $\alpha$  e a resistina, estão relacionados com o desenvolvimento tumoral (Figura 2) (Laflamme, 2006; Gayte et al., 2004; Coppack, 2001; Miller et al, 1998).

Figura 2. Alguns fatores secretados pelo tecido adiposo (Laflamme, 2006)



Nos cães, com tumores benignos ou tumores malignos, parece existir uma interferência com a expressão das principais adipocitocinas, incluindo a leptina, a adiponectina e o Obr. Lim et al (2015), avaliaram a relação entre a obesidade e a inflamação crônica do tecido da glândula mamária. Estes autores descreveram que as cadelas, com excesso de peso ou obesas, tinham carcinomas mamários (CMs) numa idade mais jovem em relação aos cães com uma condição corporal ideal ou mais baixa que a ideal e, ainda, encontraram maior frequência de invasão linfática por células carcinomatosas nestes cães (Arita, et al., 1999) (Ishioka et al., 2006).

A obesidade também está associada a uma diminuição das concentrações de globulinas de ligação a hormonas sexuais e, assim, existe uma concentração mais elevada de estrogénios circulantes e aromatasas (Withrow et al., 2013) (Zahid et al., 2016b). Portanto, as concentrações aumentadas de aromatase na obesidade e na inflamação têm sido associadas ao aumento da probabilidade de aparecimento de tumores mamários, na medida em que também aumenta a concentração de estrogénios, quer localmente quer em circulação (Bulun et al., 2012; Zahid et al., 2016).

## **2.2. Fatores nutricionais relacionados com a obesidade e as neoplasias mamárias**

O ambiente partilhado e o estilo de vida dos animais de estimação e das suas famílias humanas forneceram uma forte justificação para a exposição a factores de risco e para o aparecimento de tumores associados a esta situação (Chandler et al., 2017).

Vários fatores nutricionais têm sido apontados como promotores da carcinogénese e parece existir uma relação entre os fatores nutricionais diretamente associados à obesidade e os TGMs (Calle & Kaaks, 2004).

O risco do aparecimento de TGMs pode estar ligado a fatores nutricionais interagindo já nos primeiros meses de vida do animal, principalmente antes do primeiro cio. A obesidade no primeiro ano de vida, assim como um ano antes do diagnóstico da doença tumoral, parece predispor as fêmeas à neoplasia (Sonnenschein et al., 1991).

A alimentação caseira, principalmente no que se refere à alta ingestão de carnes bovinas e suínas, apresentou correlação positiva com o desenvolvimento tumoral em cadelas (Sonnenschein et al., 1991). Alenza et al. (1998) mostraram que a ingestão em grandes quantidades de carne vermelha, especialmente carne bovina e carne de porco, e uma baixa ingestão de frango são fatores de risco para o desenvolvimento de displasia da glândula mamária e TGMs em cães.

A obesidade e uma dieta rica em gorduras têm sido associadas a um risco aumentado de neoplasia de mama em mulheres (Stoll 2000; La Guardia & Giammanco 2001) e em cães (Alenza et al. 1998).

### 3. Apresentação clínica

Os TGMs afetam, mais frequentemente, os 2 últimos pares mamários caudais, onde o tecido da glândula mamária é maior. No entanto, toda a cadeia mamária deve ser examinada cuidadosamente de modo a serem detectados nódulos de menor dimensão (Daleck et al., 2008)

Os carcinomas mamários caninos (CMCs) são normalmente fáceis de detectar através de um exame clínico de rotina (Withrow et al., 2013).

Os nódulos tumorais, independentemente do tipo de tumor e do momento em que são detectados, podem ser pequenos, médios ou grandes, ulcerados, aderentes ao tecido envolvente, bem circunscritos e podem afetar uma ou mais glândulas (Santos & Matos, 2015). Com efeito, cerca de 70% das fêmeas inteiras possuem mais de um tumor mamário no momento do diagnóstico (Withrow et al., 2013).

Os linfonodos regionais podem estar normais ou aumentados à palpação. Cerca de 10% a 50% dos cães com TGMs apresentam linfadenomegália (Yamagami, Kobayashi & Takahashi, 1996).

O tamanho do tumor e a presença de sinais sistémicos são variáveis. A duração dos sinais clínicos pode variar de alguns dias a vários meses. No entanto, os cães com uma duração menor de sinais clínicos têm uma maior agressividade tumoral e um prognóstico mais desfavorável (Alenza & Tabanera, 1999). Algumas características macroscópicas do tumor podem sugerir o comportamento biológico de certos TGMs das cadelas. (tabela 3) (Ferguson, 1985).

Tabela 2. Sinais clínicos e provável comportamento biológico (Ferguson, 1985)

Características Malignas	Características Benignas
Ulceração Fixação ao tecido adjacente Crescimento Rápido Margens mal definidas Inflamação Prurido no Tumor Edema	Não Ulcerado Livramento móvel sobre a pele Crescimento Lento Bem delimitado Sem inflamação Sem prurido



Todos os TGMs individuais devem ser submetidos a biópsia porque podem ter diferentes tipos histopatológicos (Sorenmo, 2003). Os cães que possuam uma doença metastática avançada ou carcinoma inflamatório mamário, geralmente, apresentam sinais sistêmicos da doença no momento do diagnóstico e a gravidade desses sinais depende da extensão e da localização das metástases (Daleck et al, 2008).

As metástases surgem com maior frequência nos pulmões e nos linfonodos regionais, mas também podem metastizar noutros órgãos ou tecidos, incluindo osso, cérebro, fígado, baço, rins e pele. Nestes locais a propagação do tumor é realizada por vasos sanguíneos ou linfáticos (Sorenmo, 2003).

Os cães com metástases de tumores primários podem ou não ter nódulos tumorais facilmente detectáveis na glândula mamária, dependendo se foram submetidos a uma ressecção cirúrgica prévia. As metástases de TGMs ocorrem, normalmente, no intervalo de um 1 ano após a cirurgia inicial (Daleck et al., 2008).

Os cães com carcinoma inflamatório da glândula mamária apresentam sinais clínicos mais exuberantes. Os sinais clínicos típicos incluem inflamação extensa das glândulas mamárias, edema e dor, sendo muitas vezes confundidos com mastites. Geralmente, estes animais têm sinais clínicos de doença como fraqueza, perda de peso, poliúria e polidipsia e uma incidência elevada de doença metastática, tanto a nível dos linfonodos como a nível pulmonar. O prognóstico nestes casos é muito grave, com uma sobrevivência média de 25 dias após o diagnóstico (Alenza & Tabanera, 1999).

### **3.1. Exame clínico e diagnóstico**

A anamnese e o exame físico, em conjunto com o estadiamento dos TGMs, têm um papel importante no seu diagnóstico e prognóstico. As análises sanguíneas como o hemograma, as análises bioquímicas e os exames imagiológicos são essenciais quando existe a deteção de um nódulo mamário (Withrow et al., 2013)

Também, a biópsia cirúrgica ou a punção aspirativa por agulha fina, são ferramentas que devem ser utilizadas para diagnóstico dos tumores (Otoni et al., 2010).

O exame citológico feito por PAAF, apresenta importantes benefícios no esclarecimento de alguns aspectos no diagnóstico precoce de lesões mamárias (Shafiee et al., 2016) e permite a diferenciação dos processos inflamatórios de outros tumores que podem ocorrer próximo da glândula mamária (Daleck et al., 2008). Segundo Simon et al (2009), o exame citológico apresenta uma sensibilidade de 88% e uma especificidade de 96% para o diagnóstico de malignidade.

O diagnóstico histopatológico é o método de eleição para identificar as características de uma neoplasia. De facto, este método permite classificar o grau do tumor

avaliando a presença de necrose, a invasão linfática e sanguínea, e deste modo delinear um plano terapêutico de acordo com os dados encontrados (Daleck et al., 2008)

Os exames de imagens mais frequentemente utilizados para identificação de metástases pulmonares são os exames radiográficos, a ressonância magnética e Tomografia Axial Computadorizada (Otoni et al., 2010). Radiograficamente, as metástases pulmonares podem ser caracterizadas por nódulos bem definidos, nódulos mal demarcados ou a presença de derrame pleural sem evidência de lesões pulmonares (Chang, Chang & Wong, 2005).

A ecografia abdominal é outro método importante e permite avaliar a possibilidade de metástases no parênquima hepático, nos linfonodos regionais ou noutras estruturas abdominais (Daleck et al., 2008).

Um estudo demonstrou que a termografia pode ser uma ferramenta muito útil para detectar TGMs em cadelas e gatas (Pavelski et al., 2015). A termografia é usada na mulher para detecção precoce de TGMs, quando estes ainda não são palpáveis, e consiste no controle da temperatura da superfície de um objeto ou corpo por sua emissão de calor (Pavelski et al., 2015). Com efeito, existe um significativo aumento da temperatura das glândulas mamárias com nódulos tumorais, independentemente do tamanho do tumor e da sua localização (Pavelski et al., 2015).

### **3.1.1. Biomarcadores**

A imuno-histoquímica (IHC), comparativamente à histopatologia convencional, tem um papel crescente na identificação de tumores (Leong et al., 2010).

Os TGMs das cadelas têm uma morfologia e uma biologia heterogênea e a escolha do biomarcador mais apropriado continua a ser o maior desafio (Mobasheri & Cassidy, 2010).

Um biomarcador perfeito deve ser facilmente doseado no sangue e as suas concentrações devem ser elevadas apenas nos casos de malignidade (Kaszak et al., 2018).

Os biomarcadores séricos têm vantagem superior relativamente aos biomarcadores tecidulares por não serem métodos invasivos e por mostrarem alterações antes do aparecimento dos sinais clínicos. Portanto, podem ser usados para a detecção precoce de neoplasias (Kaszak et al., 2018).

A proteína Ki-67 e o *proliferating cell nuclear antigen* (PCNA) são biomarcadores de proliferação, enquanto a p53 é um marcador de transformação neoplásica e apoptose (Tokuda et al., 2017).

Outros biomarcadores de metástases também são importantes de realizar, como as integrinas, as selectinas, as partículas do tipo imunoglobulina e as caderinas, na medida em

que são partículas de adesão e que estão presentes quando existe uma maior conexão das células uma às outras ou com tecidos adjacentes, como é o caso das metástases (Matos et al., 2006).

A caderina é o principal componente das partículas de adesão epitelial. As alterações estruturais ou funcionais da caderina-E podem comprometer a adesão de célula-célula, e favorecer o desenvolvimento do tumor e facilitando a mobilidade das células neoplásicas, consequentemente eleva a taxa metastática do tumor. A regulação negativa da Caderina--E tem sido associada com características agressivas na neoplasia mamária, e com uma diminuição da sobrevivência, (Canadas et al., 2019)

A inflamação crônica está sempre presente durante os processos neoplásicos (Carvalho et al., 2016). A Ciclo-oxigenase-2 é um dos biomarcadores mais frequentemente utilizados na inflamação e nos TGMs das cadelas é, apenas, expresso quando existe uma reação inflamatória. A sobreexpressão da COX-2 está associada ao risco de recorrência do tumor, ao estadiamento avançado, à presença de metástases e a uma diminuição da sobrevivência (Kaszak et al., 2018).

No desenvolvimento tumoral também existe a formação de novos vasos sanguíneos, a angiogénese (Sleeckx et al., 2014). Assim, para a detecção da angiogénese, os biomarcadores comuns são o fator de crescimento endotelial vascular, o receptor epidérmico do fator de crescimento, o fator de Von Willebrand, o fator VIII e o CD 31 (Sleeckx et al., 2014).

A desregulação dos receptores tirosina quinases também intervem na ativação anormal das vias de sinalização. Os *receptor tyrosine Kinase* (RTKs) mais importantes incluem o receptor do proto-oncogene KIT (c-KIT), o receptor do proto-oncogene MET (c-MET), o *epidermal growth factor* (EGFR) e a quinase do linfoma anaplástico. Eles podem ser ativados, entre outros, por mutação, sobreexpressão ou por translocação cromossômica. As vias de sinalização RTK desempenham um papel crucial em várias funções celulares e na regulação da angiogénese, bem como no processo primário do crescimento contínuo de células tumorais (Santos & Matos, 2015).

A avaliação de PCNA, de proteína p53, de E-caderina e de *vascular endothelial growth factor* (VEGF) pode ser útil quando associadas aos biomarcadores anteriores. Isto é, é sempre recomendável avaliar mais de um biomarcador para obter resultados mais fiáveis de modo a obter um prognóstico mais fiável (Kaszak et al., 2018).

Um grupo promissor de biomarcadores são os microRNA (miRNA), devido à sua alta especificidade e sensibilidade. Os miRNAs, são reguladores de expressão e podem atuar tanto como oncogenes, bem como genes supressores de tumorogénese. Diferentes níveis de expressão do miRNA surgem nos casos de TGMs hereditários ou não. O seu

doseamento pode ser realizado no sangue e nos tecidos sendo, por isso, são muito úteis (Kaszak et al., 2018).

Como biomarcadores de tecidos, também têm sido avaliadas as células tronco-cancerígenas. No entanto, devido aos seus múltiplos fenótipos e à falta de um método universal para sua determinação, não são biomarcadores muito precisos. Mesmo assim, em medicina humana, esse biomarcador auxilia na escolha de novas estratégias terapêuticas (Kaszak et al., 2018).

Nas mulheres, a neoplasia mamária é classificada principalmente com base na presença ou ausência de RE, de receptores de progesterona e de HER2. Os TGMs negativos para os RHs, acima mencionados, são classificados como triplo negativos (Subramani et al., 2017). Nos cães, esses biomarcadores também são muito estudados, porém, o significado da sobreexpressão do HER2 ainda não é claro e tem taxas que variam de 17,6% a 48% de sobreexpressão em tumores malignos (Peña et al., 2012). Com efeito, HER2 pode participar na formação do tumor, mas não necessariamente na sua transformação maligna e, assim sendo, não é um bom marcador de malignidade (Kaszak et al., 2018).

Alguns estudos, demonstram que os TGMs estrogênio-negativos podem beneficiar da realização da OVH (Kristiansen et al., 2016). Um outro estudo realizado por Kim et al., (2014), revela que os TGMs estrogênio-negativos e progesterona-positivos estavam correlacionados com piores resultados clínicos do que os TGMs RE+ e RP+.

Nos cães, foram também encontradas mutações no BRCA1 e no BRCA2 e parece que estas podem estar relacionadas com formação de TGMs, mas ainda não foi comprovado a sua hereditariedade (Yoshikawa et al., 2015). No entanto, Rivera & Euler, (2011) encontraram uma predisposição racial em mutações do BRCA1 e BRCA2. Devem ser realizados estudos mais detalhados sobre a herança de mutação genética e a influência de BRCA1 e mutações de BRCA2 no grau de malignidade de TGMs (Kaszak et al., 2018).

#### **4. Estadiamento dos tumores da glândula mamária**

Os cães com neoplasia mamária apresentam frequentemente múltiplos nódulos tumorais no momento do diagnóstico e o seu estadiamento deve ser baseado na presença do maior tumor primário presente na cadeia mamária (Sorensen et al., 2019). São classificados em 3 parâmetros: T (tumor), N (linfonodo), M (metástase), (World Health Organization -WHO) (Goldschmidt, 2011; Withrow et al., 2013; Sorensen et al., 2019).

O tamanho do tumor aumenta com os estadios I, II e III. No estadio I, os tumores são menores que 3 cm; no estadio II os tumores medem entre 3-5 cm e no estadio III os tumores são maiores que 5 cm. É considerado estadio IV quando há comprometimento dos

linfonodos, independentemente do tamanho do tumor e o estadio V representa a presença de metástases à distância (tabela 3) (Withrow et al., 2013).

Tabela 3: Estadiamento de tumores de origem epitelial de glândula mamária (Withrow et al., 2013)

Estadio	Tamanho Tumor	Status Linfonodo	Metástase
Estadio I	T1 < 3 cm	N0	M0
Estadio II	T2 3- 5 cm	N0	M0
Estadio III	T3 > 5 cm	N0	M0
Estadio IV	Qualquer tam.	N1	M0
Estadio V	Qualquer tam.	N0 ou N1	M1

#### 4.1. Sistema de classificação dos tumores de glândula mamária

Durante duas décadas, a maioria dos patologistas veterinários usavam a classificação histológica para os TGMs caninos baseada no sistema WHO, que inclui 6 categorias de tumores benignos e 14 subtipos malignos (Badve et al., 2011).

Goldschmidt, Peña, Rasotto & Zappulli, (2011) apresentaram um esquema alternativo de classificação histológica para TGMs caninos, que enfatiza arranjos arquitetônicos das células neoplásicas e envolvimento de células mioepiteliais no processo neoplásico. A classificação de 2011 é uma classificação completa, com 7 subtipos benignos e 23 malignos (Goldschmidt et al., 2011)(ANEXO II).

Segundo Goldschmidt et al. (2011) a dificuldade na avaliação de tumores mamários caninos é a identificação dos tumores que são 'verdadeiramente' malignos.

Os critérios mais significativos para o diagnóstico de tumores mamários malignos no cão, com base nos cortes corados com hematoxilina e eosina são: o tipo de tumor; o pleomorfismo nuclear, o índice mitótico; a presença de áreas de necrose distribuídas aleatoriamente dentro da neoplasia; a invasão peritumoral e a invasão linfática e, ainda, metástases de linfonodos regionais (Goldschmidt et al., 2011).

O grau de malignidade dos tumores é determinado utilizando frequentemente a classificação de Elston e Ellis (1998). Esta classificação é baseada na avaliação das três características morfológicas, nomeadamente a formação tubular, o pleomorfismo nuclear e contagens mitóticas. Cada uma destas características é pontuada de 1 a 3 (tabela 4).

Tabela 4. Grau histopatológico do carcinoma mamário de acordo com Elston & Ellis, (1998)

Características	Pontuação
<b><u>Formação de Túbulos</u></b>	
• >75%	1
• 10 a 75%	2
• <10%	3
<b><u>Pleomorfismo Celular</u></b>	
• Núcleo pequeno uniforme ou regular e nucléolos ocasionais.	1
• Grau moderado de variação de tamanho e forma dos núcleos, núcleos hiper cromáticos, e presença de nucléolos	2
• Variação acentuada no tamanho do núcleo e núcleo hiper cromático, geralmente comum ou mais nucléolos proeminentes	3
<b><u>Índice Mitótico</u></b>	
• 0-9 mitoses/campo de 10x	1
• 10-19 mitoses/campo de 10x	2
• >20 mitoses/campo de 10 x	3

Este sistema de classificação tem sido usado para estudar carcinoma mamário canino, sendo também usado como método preditivo para o risco de invasão dos vasos linfáticos e para a presença de metástases nos linfonodos regionais, no momento do diagnóstico (Peña et al., 2012).

O grau histológico do tumor é obtido pela soma das pontuações da tabela 4. O grau I é caracterizado por 3 a 5 pontos, o grau II é caracterizado por 6 a 7 pontos e o grau III é representado por 8 a 9 pontos. Os graus mais elevados são compostos por tumores anaplásicos (Cassali et al, 2014).

Tabela 5. Grau de Malignidade Histológica das tumores mamários (Goldschmidt et al., 2011)

Pontuação total	Grau de Malignidade
3 - 5	I – baixo Bem Diferenciado
6-7	II –Intermediário Moderadamente Diferenciado
8-9	III- alto Pouco Diferenciado

## **5. Tratamento**

Em medicina veterinária não existe um consenso sobre o melhor plano terapêutico para os tumores da glândula mamária. A cirurgia é o único tratamento aceite para cães, não existindo diretrizes estabelecidas para outro tipo de terapêutica (Sorenmo, 2003).

No tratamento de tumores da glândula mamária do cão deve-se ter em conta uma relação risco-benefício relativamente baixa para o paciente e para satisfazer o tutor. Um determinado protocolo de tratamento pode ser apropriado para um paciente, mas totalmente inadequado para outro (Ferguson, 1985).

### **5.1. Tratamento cirúrgico**

Os procedimentos cirúrgicos são vários e estão descritos desde os mais radicais aos mais conservadores (Sorenmo, 2003). As diferentes técnicas cirúrgicas são: lumpectomia, mastectomia simples, mastectomia regional, mastectomia unilateral e mastectomia bilateral. O maior desafio para adoptar a melhor técnica cirúrgica é saber qual é a extensão da excisão cirúrgica necessária, com o objetivo de remover todo tumor com margens limpas de células neoplásicas de modo a prevenir recidivas (Withrow et al., 2013).

No entanto, o tipo de cirurgia não parece influenciar a sobrevivência, desde que todo o tumor seja removido com margens histológicas limpas.

A mastectomia bilateral (total) simultânea é recomendada somente para cães com bom estado geral, por isso a seleção e avaliação de pacientes deve ser muito cuidadosa. Embora não seja uma técnica difícil, é necessário ter atenção aos detalhes e minimizar o traumatismo tecidular (Cassali et al., 2014).

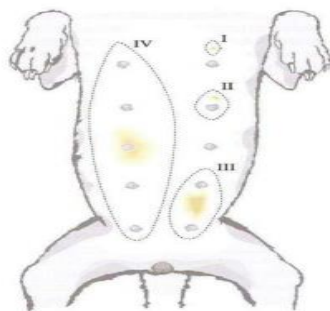
A mastectomia bilateral faseada implica realizar duas mastectomias unilaterais, geralmente com 4 semanas de intervalo (Sleeckx et al. (2011).

Os procedimentos cirúrgicos envolvem incisões elípticas em torno do tecido mamário até atingir a parede abdominal (Figura 3) (Ferguson, 1985).

Na medida em que o sistema linfático é a principal via para o aparecimento de metástases tumorais, os linfonodos regionais também devem ser extirpados (Cassali, et al., 2014).

Por vezes, a drenagem linfática das mamas altera-se durante a evolução tumoral. Há relatos de conexões linfáticas entre mamas neoplásicas e mamas normais, mas são raras (Cassali et al., 2014).

Figura 3. Técnicas de ressecção cirúrgica dos tumores mamários: (I) Lumpectomia; (II) Mastectomia simples; (III) Mastectomia regional; (IV) Mastectomia unilateral (Cassali et al.,2017)



De acordo com Sorenmo, (2003) e Patsikas et al. (2006), em cães saudáveis a drenagem linfática ocorre para os gânglios linfáticos ipsilaterais, não existindo drenagem para a glândula contralateral ou linfonodo, no entanto, no caso de neoplasia, a drenagem pode sofrer alterações (tabela 6).

Tabela 6 – Drenagem linfática normal nas cadelas. ( Sorenmo, 2003)

Glândula Mamária	Drenagem Linfática Normal
<b>M1</b>	Linfonodo axilar
<b>M2</b>	Linfonodo axilar
<b>M3</b>	Linfonodo axilar e linfonodo inguinal superficial
<b>M4</b>	Linfonodo inguinal superficial
<b>M5</b>	Linfonodo inguinal superficial

Os carcinomas mamários, que ocorrem na glândula inguinal (M5), podem apresentar metástases por via retrógrada através do plexo linfático, no tecido subcutâneo, na região interna da coxa para os linfonodos poplíteos (Patsikas., et al 2006)

Daleck e Nardi (2016), também referem que a remoção em bloco do tecido mamário é um método vantajoso , uma vez que quanto maior for a remoção menor é a hipótese de aparecimento de recidivas.

Os diferentes tipos de cirurgia, as indicações e contra-indicações estão apresentadas na Tabela 7 (Sleeckx et al., 2011).



Tabela 7 Técnicas cirúrgicas para tumores mamários na espécie canina. Adaptado de Sleenckx et al. (2011)

Tipo de cirurgia	Descrição	Indicação	Contra-indicação
Lumpectomia/ Nodulectomia	Remoção de pequeno nódulo, não invasivo, com margens de 1 cm	Pequenos nódulos não aderentes na periferia da glândula	Múltiplas lesões, sinais de malignidade
Mastectomia Regional	Excisão da glândula afectadas e das glândulas adjacentes. Associadas á drenagem linfática e dos linfonodos	Nódulo em M1 ou M2; Nódulo em M4 ou M5; Nódulo entre M1 e M2; Nódulo entre M4 e M5	
Mastectomia Unilateral	Excisão de todas as glândulas ipsilaterais	Múltiplos nódulos ao longo da cadeia mamária. Nódulo em M3	
Mastectomia Bilateral	Remoção de todo o tecido mamário	Múltiplos nódulos em ambas as cadeias	Não recomendado devido à tensão provocada na sutura. No caso de múltiplos nódulos em ambas as cadeias deve-se optar por recorrer a mastectomias unilaterais com um intervalo de aprox. 4 semanas

Kristiansen et al., (2016) concluíram que a OVH, no momento da mastectomia, melhora o prognóstico de cadelas com TGMs, mas não ficou demonstrado que existia uma diminuição significativa do risco de recidivas. No entanto, os cães com tumores grau II com RE positivos, antes da cirurgia, podem beneficiar com a OVH (Santos & Matos, 2015).

Segundo Schneider et al.(2015), a sobrevivência média, dos animais com TGMs é de 10,7 meses após a excisão cirúrgica

## 5.2.Terapêutica clínica

Estratégias terapêuticas sistêmicas incluem terapêutica hormonal, quimioterapia citotóxica e anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) (Santos & Matos, 2015).

### 5.2.1. Terapêutica hormonal

A terapêutica hormonal é frequentemente usada no tratamento dos tumores mamários de mulheres, com o objetivo de prevenir os efeitos de RP e dos RE. No entanto, nos cães as expressões destes RH são mais reduzidas, particularmente RE. Alguns tratamentos hormonais foram investigados com CMC com resultados promissores (Santos & Matos, 2015).

Há evidências de que o antagonista da progesterona, a aglepristona, diminui significativamente a proliferação de RP em cães com carcinomas mamários, sugerindo que pode ser um bom tratamento coadjuvante para este grupo de animais. Por outro lado, o uso

de tamoxifeno, tratamento anti-estrogênio frequentemente usado nos tumores das mulheres, tem sido descrito como causador de efeitos colaterais intensos e sem atividade antitumoral em neoplasias mamárias agressivas em cães (Santos & Matos, 2015).

É possível que tal falha terapêutica esteja relacionada a uma menor expressão de RE por esse tipo de tumores (Santos & Matos, 2015).

### **5.2.2. Quimioterapia citotóxica**

Embora a quimioterapia seja rotineiramente usada em cães com tumores malignos da glândula mamária como terapêutica adjuvante, há informações limitadas sobre o seu uso e a sua eficácia (Sorenmo, 2003).

O uso de doxorrubicina associada à ciclofosfamida ou o uso de cisplatina ou carboplatina como fármacos isolados, fazem parte de diferentes terapêuticas, contudo são precisos mais estudos para determinar a existência de um protocolo eficiente para tumores mamários caninos (Withrow et al, 2013)

Um estudo realizado Karayannopoulou et al (2001) demonstrou que a terapêutica da associação de 5-fluorouracil na dose de 150 mg/m<sup>2</sup> e ciclofosfamida na dose de 100 mg/m<sup>2</sup>, administradas no mesmo dia, semanalmente, por quatro semanas, não parece apresentar efeitos colaterais. É bem tolerada pelos animais e ainda apresenta uma melhoria no intervalo livre de doença e tempo de sobrevivência, quer em cães com carcinomas complexos, quer em cães com carcinossarcomas. Já Marconato, Lorenzo, Abramo, Ratto, & Zin (2008) compararam cães com carcinomas mamários agressivos (carcinoma simples, carcinomas espinocelular, sarcoma, carcinosarcoma) que após cirurgia receberam como terapêutica gemcitabina (administrada semanalmente na dose de 800 mg/m<sup>2</sup>), mas o tempo até ao aparecimento de recidivas locais ou de metástases à distância ou do tempo de sobrevivência não melhoraram com esta terapêutica coadjuvante. Lavallo et al (2012) demonstraram que os animais tratados com carboplatina, com ou sem inibidores da COX-2, tiveram uma maior sobrevivência quando foram comparados a animais submetidos exclusivamente ao tratamento cirúrgico, indicando que este protocolo é benéfico para tumores mamários caninos.

Os inibidores da ciclooxigenase (COX) são considerados tratamentos promissores na prevenção e no tratamento das neoplasias mamárias (Lavallo et al, 2009).

Lavallo et al (2009), observaram que o aumento da expressão da COX-2 estava associado a um prognóstico mais desanimador e a um menor tempo de sobrevivência, sugerindo que o uso de inibidores da COX-2 pode ser uma alternativa no tratamento e no controle da doença neoplásica avançada da glândula mamária em cadelas.

A utilização de piroxicam ou de firocoxibe, em doses elevadas, quer em tratamentos únicos quer em tratamentos combinados, diminui a viabilidade celular por efeito citotóxico direto sobre as células carcinomatosas mamárias (Üstün Alkan et al, (2012)). Porém, o uso de inibidores da COX-2 depende da análise imuno-histoquímica (pontuação > 6) e da positividade confirmada da COX-2 (Cassali et al, 2014).

Na presença de metástases, no parênquima pulmonar ou em outros órgãos, o tratamento de escolha é o uso de paclitaxel, pois parece aumentar o tempo de sobrevivência nos animais afectados (Rodaski & De Nardi, 2008)

A monitorização dos pacientes deve ser realizada a cada 3 meses no primeiro ano após o tratamento quimioterápico e, posteriormente, semestralmente durante o segundo ano de tratamento até a conclusão de um período de dois anos (Cassali et al., 2014).

Nos casos de carcinoma inflamatório, a ressecção cirúrgica não é recomendada, sendo indicadas terapêuticas de controlo da dor associada à quimioterapia antineoplásica. O uso de piroxicam na dose de 0,3 mg/kg, por via oral a cada 24 horas ou 0,5 mg/kg, por via oral, a cada 48 horas, aumenta a taxa de sobrevivência em cães. O tratamento deve durar o maior tempo possível e, se o paciente tolerar, deve prolongar-se entre três a seis meses (Cassali et al., 2014). Outra opção consiste na combinação de docetaxel e piroxicam ou como tratamento alternativo o firocoxib 5mg/kg/oral a cada 24 hs.(Cassali et al., 2014)

### **5.2.3. Inibidores da tirosina quinase**

Atualmente existem dois *tyrosine kinase inhibitor* (TKIs), o toceranib e o masitinibe, utilizados em cães. Estes foram desenvolvidos para o tratamento de mastocitomas, embora atualmente estejam a ser testados noutros tipos de tumores caninos (Santos & Matos, 2015).

O masitinibe é um potente fármaco que sensibiliza as células tumorais aos efeitos da quimioterapia, tendo sido usado em conjunto com gemcitabina para tratamento de carcinoma mamário canino (Karayannopoulou & Lafioniatis, 2016).

O benefício destes e de outros TKIs em protocolos únicos ou combinados, em neoplasias de glândula mamária, poderão ser futuramente uma boa alternativa terapêutica (Santos & Matos, 2015).

Um estudo, sobre o tratamento oral do carcinoma inflamatório com toceranib, talidomida e piroxicam, com ou sem radioterapia, mostrou benefícios clínicos em uma proporção significativa de cães. Em animais tratados apenas com terapêutica anti-angiogênica, a taxa de resposta geral foi de 21% e a taxa de benefício clínico foi de 64%; o tempo médio para progressão foi de 28 dias e o tempo médio de sobrevida foi de 59 dias. Em cães recebendo a terapêutica médica e submetidos à radioterapia, a taxa de resposta geral e a taxa de benefício clínico foram de 100%, com tempo significativamente maior de

progressão (156 dias) e de sobrevivência (180 dias) (Rossi, Sabbatini, Vascellari & Marconato, 2018).

O tratamento ideal para os TGM caninos permanece incerto. A abordagem atual, consiste em anti-angiogênicos sistêmicos e fármacos, com ou sem radioterapia hipofracionada. Esta modalidade terapêutica parece proporcionar benefícios clínicos em um número significativo de cães e deve ser, portanto, melhor explorada (Rossi et al (2018).

#### **5.2.4. Radioterapia**

O interesse da radioterapia está relacionado com a redução de extensão tumoral, permitindo que os tumores sejam posteriormente removidos cirurgicamente. No entanto, há pouca informação disponível relativamente à sua utilização no tratamento de tumores mamários em animais (Lana et al., 2009).

### **6. Prognóstico**

O prognóstico é geralmente baseado no estadiamento do tamanho do tumor, na presença de ulceração cutânea, na evolução rápida do crescimento, na invasão regional ou à distância, nas características histológicas (tipo histológico; grau nuclear e índice mitótico) (Queiroga & Lopes, 2002); na expressão de receptores hormonais (ER e PR), expressão de COX-2 (tabela 9) (Sleeckx et al., 2011).

O índice de proliferação tumoral e a densidade de microvasos no interior do tumor também são fatores prognósticos relevantes (Sleeckx et al., 2011).

Os cães com TGMs em estadios mais avançados apresentam pior prognóstico (Yamagami, Kobayashil & Takahashi, 1996).

O tamanho do tumor é uma das características mais estudadas no prognóstico dos TGMs em cães. Com efeito, o tamanho está relacionado com um maior número de divisões de células tumorais e com uma maior possibilidade de evolução maligna (Matos et al., 2012).

Os cães com metástases nos linfonodos têm um tempo de sobrevivência menor do que cães sem metástases (Matos et al., 2006)

Os animais com tumores muito proliferativos, assim como aqueles com uma maior densidade de microvasos no interior do tumor, apresentam pior prognóstico (Kaszak et al., 2018).

Tabela 8. Factores intervenientes no prognósticos de TGM (Sleeckx et al., 2011) .

Factor	Efeito Prognóstico
<b>Idade</b>	Idade avançada: controverso
<b>Tamanho do tumor</b>	<3cm : Alto TLD e ST 3-5 cm: Médio TLD (22 meses) >5 cm: Médio ST (14 meses)
<b>Tipo Histopatológico</b>	Carcinoma Anaplásico 2,5 meses de ST Carcinoma Tubulopapilar: 21 meses de ST Carcinoma Solido: 16 meses de ST Outros tipos de carcinomas: 14 meses de ST
<b>Estadio Tumor</b>	Estadios elevados : Baixa sobrevivência
<b>Grau</b>	Grau I:100% de ST Grau II: 53,3% de ST Grau III: 13,5% de ST
<b>Tempo de evolução e ulceração</b>	Crescimento rápido e ulcerado: baixa sobrevivência
<b>Metastase para linfonodo regional</b>	Baixa Sobrevivência
<b>Metastase a distância</b>	Baixa Sobrevivência
<b>Expressão HR</b>	Baixa expressão: baixa sobrevivência e baixo TLD
<b>Expressão de COX-2</b>	Alta expressão: baixa sobrevivência e baixa TLD
<b>Densidade de microvasos</b>	Alta densidade: aumenta risco de recorrências e metastase em linfonodos
<b>Expressão de Ki67</b>	Alta expressão: alto risco de metástase e morte, baixa sobrevivência e TLD

Vários biomarcadores foram avaliados relativamente ao prognóstico e de diferentes tipos de neoplasia quer no homem quer nos animais, nomeadamente os RE, RP, COX-2, e Ki-67 (Cassali et al., 2014). Outros biomarcadores que também podem ser utilizados são: o EGFR, a E-caderina e a  $\beta$ -catenina, o HER-2 e o p53 (Cassali et al, 2014)

Os tumores benignos e bem diferenciados têm mais REs, enquanto tumores anaplásicos indiferenciados têm menos. A associação entre grau histológico e expressão de REs é, ainda, mais evidente pelo fato de existir uma correlação inversa entre expressão de RE e a proliferação de índice nuclear, o qual é avaliado pelo Ki-67 (Nieto et al, 2000). Os pacientes com tumores RE-positivos respondem melhor à ausência de estrogénios ou ao bloqueio de ER (Nieto et al, 2000).

A COX-2 tem uma expressão mais alta nos tumores com um mau prognóstico. Uma expressão alta de COX-2 está relacionada com uma maior malignidade, a um aumento da capacidade proliferativa de células neoplásicas, a uma diminuição da taxa apoptótica e à neovascularização (Cassali et al., 2014)

Também, um Ki-67 de valor elevado pode revelar um maior risco de metástases.(Shafiee et al., 2016)

A densidade de microvasos tem sido descrita como um importante fator prognóstico e está associada com a malignidade em tumores da glândula mamária canina. Com efeito,

os tumores malignos têm uma neovascularização aumentada em comparação com tumores benignos. Quanto maior for a densidade de microvaso, maior é o risco de recidivas locais, metastização nos linfonodos e menor a diferenciação histológica (Graham & Myers, 1999).

A idade avançada no diagnóstico é controverso na literatura. Alguns autores relatam como fator prognóstico negativo (Matos, Baptista, Gärtner & Rutteman, 2012). Outros não definem a idade como factor prognóstico (Sorenmo, 2003).

No homem, o excesso de peso e a obesidade parecem influenciar o tratamento e os seus resultados, comprometendo, o prognóstico relativamente á terapêutica quimioterápica (Wong et al., 2014). Parece que um elevado volume de gordura intra-abdominal predispõe a uma maior exposição à doxorubicina e à toxicidade hematológica em mulheres com neoplasia mamária, em comparação com a área da superfície corporal (Wong et al., 2014). Em medicina veterinária não existem dados relativamente a este contexto, sendo necessários estudos, nos quais se avaliem as diferentes doses de diferentes protocolos terapêuticos que podem ter influência nos animais obesos e, deste modo, que possam contribuir para uma menor taxa de sobrevivência (Karayannopoulou & Lafioniatis, 2016).

### ***Parte III: Tumores mamários em cadelas e a relação da agressividade tumoral com a condição corporal: estudo retrospectivo de 29 casos***

#### **1. Introdução**

A obesidade e o risco de desenvolver neoplasia mamária assim como o seu prognóstico parecem estar relacionados. Embora a maioria dos estudos demonstre haver associação entre obesidade e um pior prognóstico, os resultados são discrepantes.

No homem, a obesidade tem sido associada ao aumento da mortalidade por neoplasias assim como a uma maior agressividade do tumor, maiores taxas de recidivas e diminuição da resposta ao tratamento devido a possíveis resistências, sendo necessário aumentar a concentração de determinados fármacos.

Em medicina veterinária, apesar do elevado número de neoplasias em cães com sobrepeso ou obesos, a associação entre obesidade, agressividade tumoral e respostas ao tratamento ainda não foram avaliadas.

A obesidade tem sido associada a vários mecanismos biológicos com a neoplasia mamária, incluindo inflamação, desequilíbrios da adipocina e de hiperestrogenemia.

#### **2. Objetivos**

O objetivo desta dissertação foi avaliar se a condição corporal, no momento do diagnóstico, tem influência no desenvolvimento dos TGMs em cadelas (TGMCs), verificar se existe uma maior probabilidade do seu aparecimento relacionada com a condição corporal, com a prevalência de tumores de maior agressividade e ainda avaliar estas probabilidades com o prognóstico dos TGMs.

#### **3. Materiais e métodos**

##### **3.1. Animais**

A amostra em estudo foi constituída por cadelas avaliadas no departamento de Oncologia do Hospital Veterinário Oasis na cidade de São Paulo, Brasil, entre Maio de 2011 e Dezembro de 2019, e divididas em dois grupos pela sua condição corporal segundo o sistema de avaliação de condição corporal desenvolvido pelo Centro Nestlé Purina de Pesquisa e Desenvolvimento (anexo 1). Dentro destes grupos foram definidas as categorias porte “pequeno” (1-10 kg), “médio” (11-25 kg) e “grande” (26-45kg).

Os grupos também foram caracterizados segundo a idade, a raça e a classificação do grau de malignidade do tumor.

Os proprietários foram contatados por telefone no dia 10 de Janeiro de 2020 a fim de serem obtidos dados sobre o estado de saúde do animal ou do seu falecimento.

#### **3.1.1. Grupo Obeso (GO)**

O grupo Obeso (GO) foi constituído por cadelas de qualquer idade, raça, estado reprodutivo e com diagnóstico prévio de TGMs obtidos através de exame histopatológico e cuja condição corporal era  $\geq 6$  (escala 1/9).

#### **3.1.2. Grupo não obeso (GNO)**

O grupo não Obeso foi constituído por cadelas de qualquer raça, idade peso, estado reprodutivo e com diagnóstico prévio de TGMs obtidos através de exame histopatológico com uma condição corporal  $\leq 5$  (1/9)

#### **3.1.3. Critérios de Inclusão**

Foram incluídas apenas cadelas com TGMs que possuíam identificação, anamnese, exame clínico com registo do peso, condição corporal, idade, resultado histopatológico e tempo de sobrevivência. Apenas as cadelas que foram submetidas a excisão cirurgica foram incluídas.

#### **3.1.4. Critérios de Exclusão**

Foram excluídas do estudo as cadelas sem história clínica e sem informações mínimas necessárias, assim como aquelas das quais não foi possível obter dados sobre a sua sobrevivência.

### **3.2. Análise estatística**

Para a análise estatística recolheram-se os dados, os quais foram compilados em tabelas realizadas através do programa Microsoft Office Excel®. Para a análise estatística foi utilizado o programa Epitools e o teste utilizado foi o teste de Fisher, para avaliar tabelas de contingência e perceber se havia uma maior probabilidade de piores prognósticos na obesidade, sendo que as relações entre variáveis foram consideradas estatisticamente significativas se o valor  $< 0.05$ .

Para verificar a probabilidade da existência de um melhor ou pior prognóstico em relação à condição corporal dos animais, foi utilizado o teste de Fisher. As probabilidades



foram determinadas em 4 variáveis, nomeadamente: grupo GO e GNO; grupo de lesões malignas e grupo de lesões benignas. O mesmo procedimento foi realizado para observar se o grau de agressividade (grau I e grau II) dos carcinomas mamários era mais provável nos grupos (GO e GNO).

Os animais deste estudo apresentaram frequentemente, na cadeia mamária, múltiplas mamas comprometidas, com diferentes graus e resultados histológicos. Deste modo, para a correlação dos tumores mamários de grau II, foi apenas considerada a mama com carcinoma de maior agressividade tumoral de toda a cadeia mamária. Para a correlação dos tumores de grau I, foram tidos em consideração os resultados que apenas apresentaram carcinomas de grau I em toda a cadeia mamária.

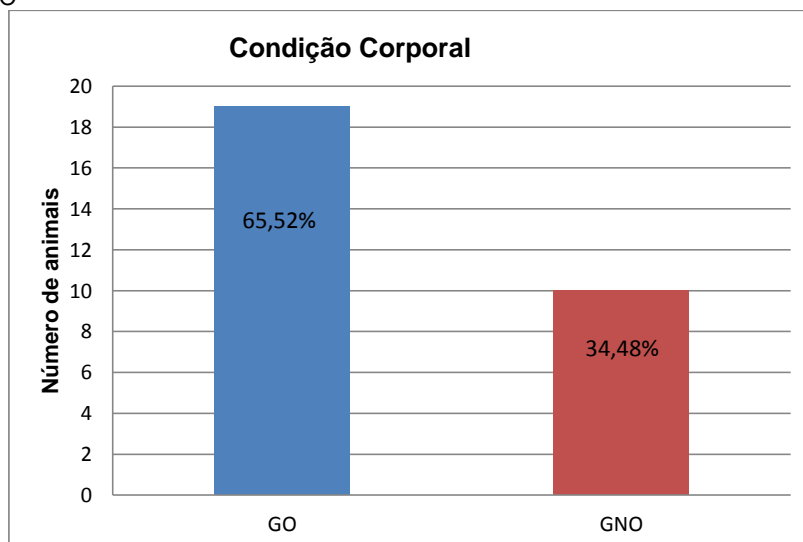
A análise de sobrevivência foi realizada com o teste de Kaplan Mayer através do programa Medcalc® easy-to-use statistical software e as variantes como tempo (meses), GO (1) x GNO (2) e a do último evento são nomeadamente as últimas notícias do estado de saúde do animal, ou melhor, se encontravam-se vivos ou mortos. O estudo estatístico de sobrevivência total foi limitado ao grupo dos tumores malignos.

## 4. Resultados

### 4.1. Condição corporal

Foram identificados 29 animais, dos quais 65,52% pertenciam ao GO (n=19) e 34,48% ao GNO (n=10) (gráfico 3).

Gráfico 3: Frequência relativa da condição corporal nos animais diagnosticados com TGM nos grupos GO e GNO



## 4.2 Raças

No grupo de animais em estudo, foram identificadas as seguintes raças: Caniche (n= 7); Indeterminado (n= 7); Cocker Spaniel (n=3); Teckel (n=2); Pinscher (n=2); Dálmata n=2); Lhasa Apso (n=1); Pit Bull (n=1); Schnauser (n=1); York Shire (n=1); Bull Terrier (n=1); Labrador (n=1). A relação de raças e de grupos correspondentes estão relacionados na tabela 9.

Tabela 9: Raças indenticadas nos grupos GO e no GNO.

Raça (nº de Animais)	GO	GNO	Total
Caniche	5	2	7
Indeterminada	6	1	7
Cocker Spaniel	1	2	3
Teckel	1	1	2
Pinscher	1	1	2
Dalmata	2	0	2
Lhasa Apso	1	0	1
Pit Bull	0	1	1
Schnauser	0	1	1
York Shire	0	1	1
Bull Terrier	1	0	1
Labrador	1	0	1

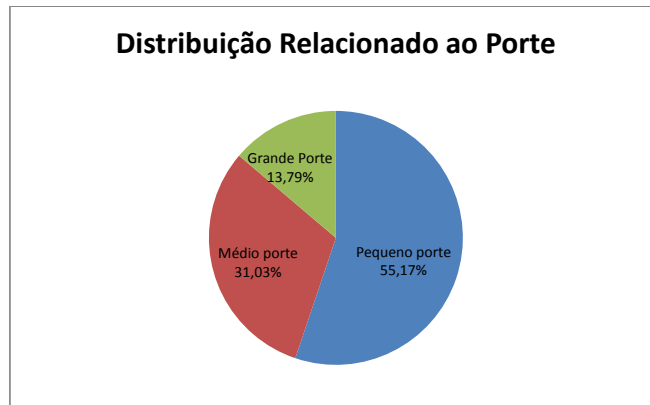
## 4.3. Porte

Em relação ao porte, foi observado que 55,17% dos TGMs pertenciam aos animais de pequeno porte (n= 16), no qual 11 animais pertenciam ao GO e 5 animais ao GNO. Nos animais de porte médio, foi encontrado 31,03% (n=9) de animais com TGMs, dentro dos quais, 4 animais perteciam ao GO e 5 animais ao GNO. E por fim, os animais de grande porte representavam 13,79% (n=4) da amostra, no qual 3 animais encontravam-se no GO e apenas 1 animal ao GNO, (tabela 10).

Tabela 10: Porte nos grupos GO e no GNO

Porte (nºde animais)	GO	GNO	Total
Pequeno Porte	11	5	16
Médio Porte	4	5	9
Grande Porte	3	1	4

Gráfico 4: Distribuição de ocorrência relacionado ao porte dos animais

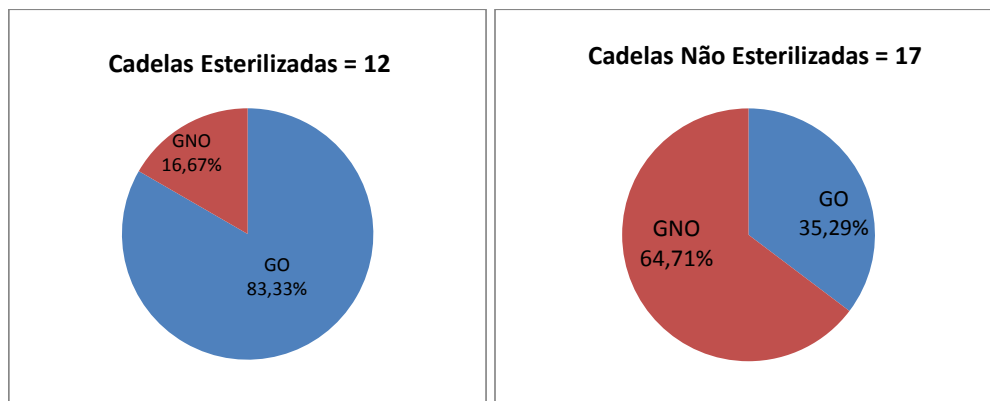


#### 4.4. Estado reprodutivo

Dentre as cadelas esterilizadas (n=12), foi possível observar que 83,33% (n=10) encontravam-se no GO, enquanto 16,67% (n=2), encontravam-se dentro do GNO.

Nas cadelas não esterilizadas (n=17), 35,29 % (n=6) pertenciam ao GO e GNO representava 64,71% (n= 11 (Gráfico 4).

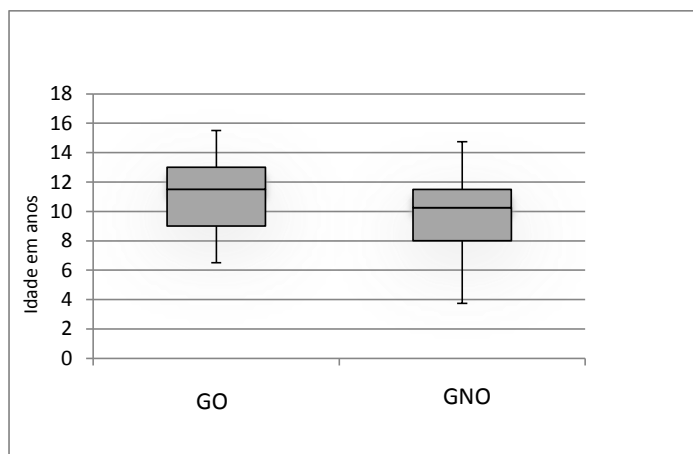
Gráfico 5: Frequência relativa do estado reprodutivo no grupos GO e no GNO



#### 4.5. Idade

A idade na amostra variou entre os 4 e 16 anos de idade. A idade média dos animais do GO com lesões mamárias foi de  $11,68 \pm 2,77$ anos e os animais do GNO foi de  $10,10 \pm 3,07$ anos.

Gráfico 6: Média de idade das cadelas com lesões mamárias nos grupos GO e GNO



#### 4.6. Classificação histopatológica

A classificação histopatológica dos TGMs consta na tabela 12 em que o grau de agressividade está por ordem decrescente.

As lesões malignas foram Carcinoma in situ n=3; Carcinoma Simples Tubulo/Papilar n =12; Carcinoma Sólido n= 3; Carcinoma Complexo n =7; Carcinoma misto n=8, Carcinoma Mucinoso n=1; Osteossarcoma n=1, Fibrosarcoma n= 1; Carcinossarcoma n=1. As lesões benignas diagnosticadas foram: Adenoma n=2; Mioepitelioma Benigno n=1; Quisto Mamário n=1; Ectasia Ductal n=1; Hiperplasia Ductal n=1;.

Tabela 11: Apresentação dos diferentes tipos histológicos de lesões benignas e malignas analisadas.

Lesões Malignas			Lesões Benignas		
Tipo Histológico	N	%	Tipo Histológico	N	%
Carcinoma S.Tubulo Papilífer	12	32	Adenoma	2	33
Carcinoma Misto	8	22	Miopitelioma Benigno	1	17
Carcinoma Complexo	7	19	Quisto Mamário	1	17
Carcinoma In Situ	3	8	Ectasia Ductal	1	17
Carcinoma Sólido	3	8	Hiperplasia Ductal	1	17
Carcinoma Mucinoso	1	3			
Osteosarcoma	1	3			
Fibrosarcoma	1	3			
Carcinosarcoma	1	3			

As lesões benignas foram de 13,73% (n=4), em que 10,34% (n=3) pertenciam ao GO e 3,43% (n=1) pertencia ao GNO. As lesões malignas foram de 86,21% (n=25) em que 58,62% (n=17) pertenciam ao GO e 27,59% (n=8) pertenciam ao GNO, (tabela 12).

Tabela 12: Nº Lesões benignas e malignas nos grupos GO e GNO

Número	Maligno	Benigno	Total
GO	17	3	20
GNO	8	1	9
Total	25	4	29

Gráfico 7: Número de animais TGMs malignas e tipos histológicos encontrados nos grupos GO e no GNO.

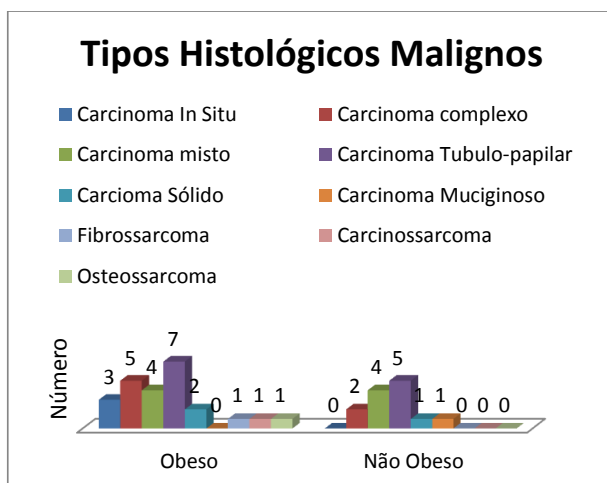
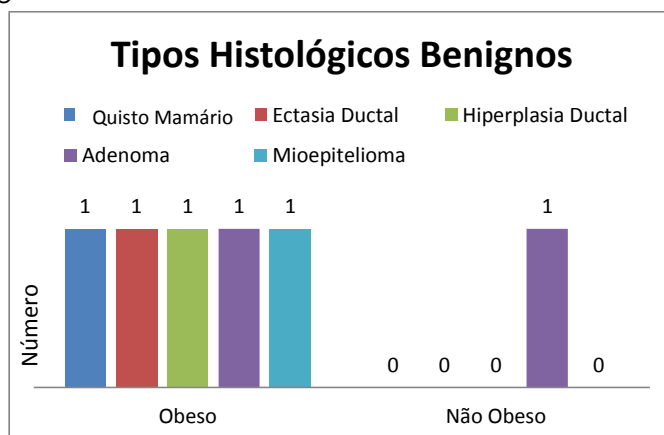


Gráfico 8: Número de animais com lesões benignas e tipos histológicos encontrados nos grupos GO e no GNO



As lesões malignas, consoante o grau de malignidade dos carcinomas de Grau I e Grau II, foram comparados com a condição corporal dos animais do estudo, como mostram os gráficos 9 e 10. Na classificação dos carcinomas de Grau I, foram incluídos 9 animais (GO= 4), representando 44,4% e (GNO= 5), representando 55,56% e na classificação dos carcinomas de Grau II foram incluídos 14 animais (GO= 11), representando 78,57% e (GNO=3), representando 21,43%.

Gráfico 9: Número de animais com lesões malignas de Grau I nos grupos GO e GNO

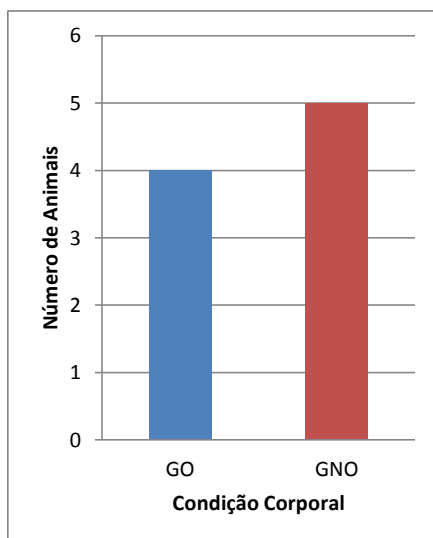
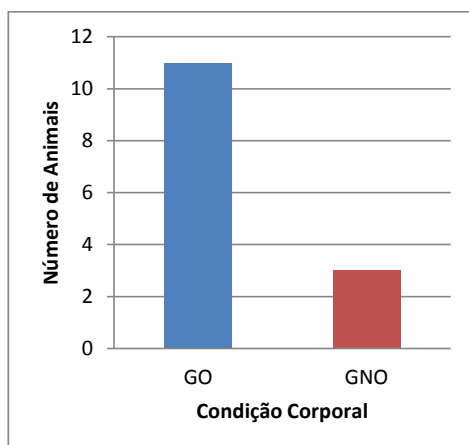


Gráfico 10. Número de animais com lesões malignas de Grau II nos grupos GO e GNO



#### 4.7. Prognóstico e a correlação com a condição corporal

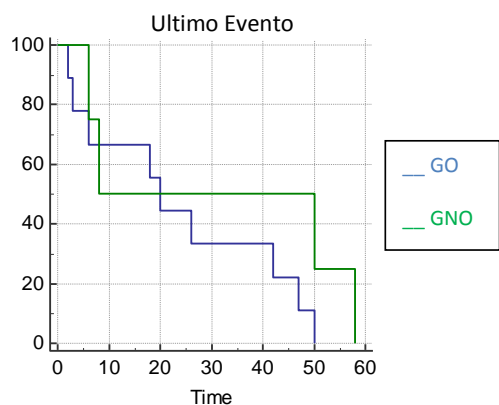
Os valores observados no teste de Fischer, com o objetivo de correlacionar a maior probabilidade de animais com elevada condição corporal desenvolver tumores malignos, foi feito a partir de 4 variáveis, nomeadamente GO e GNO *versus* grupo de lesões malignas e grupo de lesões benignas, mostra que estatisticamente não houve uma maior probabilidade de um pior prognóstico relacionado a condição corporal ( $p=0,71$ ).

O mesmo teste foi utilizado para correlacionar a probabilidade de uma maior agressividade tumoral em relação ao grau dos carcinomas mamários foi também analisada a partir de 4 variáveis, nomeadamente o GO e GNO *versus* Grau I e Grau II, contudo não existiram valores estatisticamente significativos entre os grupos ( $p=0,09$ ) que correlacionasse que animais com aumento da condição corporal desenvolvessem tipos histológicos mais agressivos.

#### 4.8. Tempo de sobrevivência

O tempo de sobrevivência global foi de 25,84 meses. A sobrevivência do GO foi de  $23,78 \pm 18,82$  meses e do GNO foi de  $30,50 \pm 27,34$  meses. No entanto, não foram observadas diferenças significativas entre os dois grupos ( $p=0,31$ ) (gráfico 10).

Gráfico 11: Sobrevivência dos animais em estudo, realizado pelo método de Kaplan Mayer



### 5. Discussão

Os tumores mamários em cadelas são encontrados com muita frequência na prática clínica e constituem aproximadamente 52% de todos os tumores (Lim et al., 2015). Existe uma panóplia de estudos sobre a etiologia relacionada com esta doença de importância relevante. Entre os fatores pré-disponentes temos a raça, diversas hormonas e a obesidade (Lim et al., 2015).

O excesso de peso tornou-se um problema de saúde significativo em humanos e nos animais (James et al., 2001). Com efeito, a incidência de obesidade está a aumentar drasticamente em cães e as estimativas sugerem que quase dois terços dos cães são obesos (McGreevy et al., 2005). No entanto, a associação entre obesidade e desenvolvimento de tumores mamários caninos (CMTs) é contraditória (Tesi et al., 2020).

É sugerido que o aumento da condição corporal e os períodos de ganho de peso estão intimamente associados à incidência dos tumores (Cleary, Grossmann & Ray, 2010; Han et al., 2006), assim como com um mau prognóstico (Mantzoros et al., 2004).

O objetivo deste estudo foi observar se a obesidade está relacionada com os TGMs, assim como estudar a relação da condição corporal com a agressividade tumoral. De facto, tivemos um maior número de casos de TGM em animais obesos (65,52%) comparativamente aos animais não obesos (34,48%) mas não existiram diferenças significativas ( $p=0,71$ ). Já Tesi et al., (2020), encontrou também uma maior percentagem de TGMs em animais obesos (57,5%) em comparação com animais não obesos (42,5%). Outros estudos também observam uma prevalência elevada de TGMs em animais obesos e correlacionam-na com um pior prognóstico (McGreevy et al., 2005; Papa et al., 2013. Lim et al., 2015).

Neste estudo encontrámos uma maior percentagem de carcinomas de grau II (78,57%) nos animais do GO comparativamente ao GNO (21,43%), enquanto que nos carcinomas de grau I encontrámos uma menor percentagem no GO (44,4%) comparativamente ao GNO (55,56%), apesar dos resultados não terem sido significativos ( $p=0,09$ ). Estes resultados, porém, são semelhantes aos de Tesi et al, (2020) e Lim et al, (2015) que referem que os animais obesos apresentam uma maior prevalência para o Grau II ao comparar o grau de agressividade tumoral com a condição corporal em animais com TGM e concluíram que os animais com uma condição corporal aumentada têm um maior risco de desenvolver tumores de tipos histológicos mais agressivos. Porém, outros estudos, com metodologias diversas e populações heterogêneas, chegaram a resultados diferentes sobre o risco de maior agressividade dos tumores em animais com condição corporal elevada (Papa et al., 2013; Marconato et al., 2009; Sonnenschein et al., 1991).

Neste estudo obtivemos diferentes tipos histológicos de TGMs, mas em quantidades não significativas para ser possível um estudo sobre o prognóstico. Lennon et al (2016) referem que, embora a obesidade esteja associada ao desenvolvimento de TGMs, é possível que esta esteja associada a subtipos biológicos de tumores menos agressivos, o que pode ter alguma correlação com os resultados estatísticos apresentados neste estudo.

Além da heterogenicidade da nossa amostra, a ausência de resultados imuno-histoquímicos, assim como a falta de informação sobre a expressão das adiponectinas, comprometeram uma análise mais detalhada da agressividade tumoral de cada um dos



tipos histológicos encontrados e a sua relação com a obesidade. Efetivamente, vários estudos sugerem que uma diminuição dos níveis séricos de adiponectina e a sua diminuição de expressão nos tumores mamários estão significativamente associados a um pior prognóstico (Marconato et al., 2008; Tesi et al., 2020).

Também avaliamos outros factores de risco dos TGMs. Assim, foi observado, um maior número de TGMs em cães de raça pura como o caniche (n=7) o que está de acordo com os estudos de Withrow et al, (2013), mas também um número igual em cadelas sem raça definida (n=7). A maior frequência do aparecimento de tumores mamários em animais sem raça definida deve-se provavelmente ao facto destes animais representarem uma maior população, quando comparados aos cães de raça definida (Daleck et al., 1998). O risco observado em raças mistas pode também refletir uma fusão de diversas suscetibilidades genéticas de muitas raças diferentes, tal como é sugerido por Oberbauer et al ( 2019).

Também, neste estudo, foi observado que existia uma frequência relativa de TGMs malignos diferente nos cães de raça de pequeno, médio e de grande porte. As raças de pequeno porte tiveram um maior número de TGMs e, o que pode ser explicado, segundo Withrow et al,(2013), à maior longevidade dos cães de pequeno porte em comparação com animais de grande porte. Embora as raças de pequeno porte representassem 55,17% do total do diagnóstico, não podemos afirmar que estes animais possuam uma maior predisposição quando comparados com os animais de grande porte. Com efeito, uma vez que não tivemos o mesmo número de animais em todos os portes para poder estabelecer uma análise estatística fiável

Além dos fatores nutricionais envolvidos no risco da obesidade, a castração precoce também é um fator predisponente para o ganho de peso (Matos et al., 2012). Existem várias explicações para o efeito da castração na obesidade como uma alteração no comportamento alimentar que leva ao aumento da ingestão de alimentos e a diminuição da atividade física com a respectiva redução da energia diária que provoca um balanço energético positivo (German, 2006). No nosso estudo, a percentagem de cadelas esterilizadas com obesidade foi de 83,33% enquanto que a percentagem de cadelas não esterilizadas foi de 35,29%. No entanto, não temos informações sobre hábitos alimentares e atividade física destes animais assim como não temos informações em que idade estes animais foram esterilizados para justificar o aumento de peso nesta amostra e a relação do efeito negativo da esterilização nestes animais.

A idade é um fator importante nos TGMs (Lana et al., 2007). A média de idade para a manifestação do tumor é de 10 a 11 anos, com raras ocorrências em cães mais jovens, com cerca de quatro anos (Lana et al., 2007). No nosso estudo, a idade média das cadelas foi  $11,13 \pm 2,87$  anos. Porém, quando a idade foi analisada em subgrupos, os cães com sobrepeso ou com obesidade obtiveram uma média de  $11,63 \pm 2,77$  anos e o grupo de cães

magros ou cães com um peso corporal ideal uma média de  $10,1 \pm 3,07$  anos, contrariando estudos que referem que os animais obesos desenvolvem a doença mais cedo do que os animais magros ou com peso ideal (Lim et al., 2015).

A sobrevivência dos animais neste estudo não revelou resultados significativos entre os animais obesos com TGMs e os animais não obesos ( $p=0,31$ ). Tal facto poderá ter havido com a variedade histológica de TGMs da nossa amostra assim como a ausência de dados sobre os diferentes protocolos terapêuticos pós-cirúrgicos preconizados nos animais incluídos na nossa amostra, e que poderão ter tido influência o seu tempo de sobrevivência.

Outra explicação para o tempo de sobrevivência não ter sido significativo entre os 2 grupos, foi o tempo de seguimento clínico dos casos. A média do tempo de seguimento foi de 22 meses, com um mínimo de dois meses e um máximo de 64 meses. Os animais que foram diagnosticados mais recentemente estavam ainda vivos por não terem tido tempo suficiente para a doença progredir. Os animais que foram diagnosticados há mais tempo, por sua vez, obtiveram maiores possibilidades de ter vindo a perecer.

O paradoxo da obesidade pode de alguma forma justificar o resultado que tivemos neste estudo em relação à sobrevivência, uma vez que os animais que tenham uma neoplasia e uma condição corporal abaixo da ideal têm, geralmente, uma taxa de sobrevivência menor quando comparados com aqueles que têm uma condição corporal ideal ou aumentada. Este paradoxo está associado com a maior sobrevivência dos animais obesos em comparação com indivíduos que possuam um peso ideal, apesar do excesso de peso ser um fator de risco conhecido para o desenvolvimento inicial dos TMCs (Lennon et al., 2016; Romano et al., 2016).

## **6. Conclusão**

Apesar de não termos encontrado valores estatisticamente significativos relacionados a piores prognósticos e a um menor tempo de sobrevivência em animais com excesso de peso e/ou obesos comparativamente com animais com condição corporal ideal ou magros, diversos estudos apontam um maior risco para o aparecimento de tumores mamários na obesidade, bem como sua interferência na agressividade tumoral e no seu prognóstico,

Pesquisas futuras que avaliem melhor os efeitos deletérios da obesidade nos tumores mamários serão de grande importância para a medicina veterinária.

A grande maioria dos estudos realizados neste âmbito sugerem que existe uma influência negativa e podemos estar perante um factor modificável para o manejo dos animais com TGMs.

A realização de uma castração precoce diminui significativamente os riscos de desenvolvimento de tumores mamários em cães, devido à menor exposição a hormonas. Por outro lado, a obesidade pode ser desencadeada pela esterilização, sendo aquela um factor de risco para o aparecimento de TGMs. Perante estes dados é importante considerar a aplicação, pelo médico veterinário, de programas de redução e controlo de peso, especialmente nos primeiros dois anos de vida após esterilização, de modo a prevenir o aparecimento de TGMs

Compreender os diversos factores de risco como os de origem ambiental, de origem genética e de origem comportamental, por serem partilhados entre espécies, podem ajudar-nos a melhorar e a expandir as ferramentas disponíveis para a prevenção e a gestão, quer da obesidade quer dos tumores.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- Ahmad, N., Ammar, A., Storr, S. J., Green, A. R., Rakha, E., Ellis, I. O., & Martin, S. G. (2018). IL-6 and IL-10 are associated with good prognosis in early stage invasive breast cancer patients. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 67(4), 537–549.
- Alenza, D. P., Rutteman, G. R., Peña, L., Beynen, A. C., & Cuesta, P. (1998). Relation between Habitual Diet and Canine Mammary Tumors in a Case-Control Study. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 12(3), 132–139.
- Andea, A. A., Wallis, T., Newman, L. A., Bouwman, D., Dey, J., & Visscher, D. W. (2002). Pathologic analysis of tumor size and lymph node status in multifocal/multicentric breast carcinoma. *Cancer*, 94(5), 1383–1390.
- Andersen, J., Ørntoft, T., & Skovgaard Poulsen, H. (1986). Semiquantitative oestrogen receptor assay in formalin-fixed paraffin sections of human breast cancer tissue using monoclonal antibodies. *British Journal of Cancer*, 53(5), 691–694.
- Aptekmann, K. P., Suhett, W. G., Junior, A. F. M., Souza, G. B., Tristão, A. P. P. A., Aoki, C. G., ... Tinucci-Costa, M. (2014). Nutritional and environment aspects of canine obesity. *Ciencia Rural*, 44(11), 2039–2044.
- Arita, Y., Kihara, S., Ouchi, N., Takahashi, M., Maeda, K., Miyagawa, J.-I., Hotta, K., & Shimomura, I., Nakamura, T., Miyaoka, K. (1999). Paradoxical Decrease of an Adipose-Specific Protein, Adiponectin, in Obesity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 257(1), 79–83.
- Arita, Y., Kihara, S., Ouchi, N., Takahashi, M., Maeda, K., Miyagawa, J. I., ... Matsuzawa, Y. (1999). Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 257(1), 79–83.
- Badve, S., Dabbs, D. J., Schnitt, S. J., Baehner, F. L., Decker, T., Eusebi, V., ... Reis-Filho, J. S. (2011). Basal-like and triple-negative breast cancers: A critical review with an emphasis on the implications for pathologists and oncologists. *Modern Pathology*, 24(2), 157–167.
- Balkwill, F. (2009). Tumour necrosis factor and cancer. *Nature Reviews Cancer*, 9(5), 361–371.
- Bartsch, H., & Nair, J. (2006). Chronic inflammation and oxidative stress in the genesis and perpetuation of cancer: Role of lipid peroxidation, DNA damage, and repair. *Langenbeck's Archives of Surgery*, 391(5), 499–510.
- Benakanakere, I., Besch-Williford, C., Schnell, J., Brandt, S., Ellersieck, M. R., Molinolo, A., & Hyder, S. M. (2006). Natural and synthetic progestins accelerate 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-initiated mammary tumors and increase angiogenesis in Sprague-Dawley rats. *Clinical Cancer Research*, 12(13), 4062–4071.
- Bergman, P. J. (2012). Paraneoplastic Hypercalcemia. *Topics in Companion Animal Medicine*, 27(4), 156–158.

- Bulun, S. E., Chen, D., Moy, I., Brooks, D. C., & Zhao, H. (2012). Aromatase, breast cancer and obesity: A complex interaction. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 23(2), 83–89.
- Burt, J. R., Torosdagli, N., Khosravan, N., Raviprakash, H., Mortazi, A., Tissavirasingham, F., ... Bagci, U. (2018). Deep learning beyond cats and dogs: Recent advances in diagnosing breast cancer with deep neural networks. *British Journal of Radiology*, 91(1089).
- Calle, E. E., & Kaaks, R. (2004). Overweight, obesity and cancer: Epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nature Reviews Cancer*, 4(8), 579–591.
- Canadas, A., França, M., Pereira, C., Vilaça, R., Vilhena, H., Tinoco, F., Santos, M. (2019). Canine Mammary Tumors: Comparison of Classification and Grading Methods. *Veterinary and Comparative Oncology*, 4 (17), 489-496
- Carvalho, M. I., Silva-Carvalho, R., Pires, I., Prada, J., Bianchini, R., Jensen-Jarolim, E., & Queiroga, F. L. (2016). A Comparative Approach of Tumor-Associated Inflammation in Mammary Cancer between Humans and Dogs. *BioMed Research International*, (2016), 1-12.
- Cassali, G. D., Lavallo, G. E., Ferreira, E., & Estrela-lima, A. (2014). *Review article Consensus for the Diagnosis , Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors – Brazilian Vet Pathology*, 7(2), 38-69
- Cassali, G. D., de CAMPOS, C. B., Bertagnolli, A. C., Estrela-Lima, A., Lavallo, G. E., Damasceno, K. A., ... Nakagaki, K. Y. R. (2019). Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of feline mammary tumors. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 55(2), 1–17.
- Chandler, M., Cunningham, S., Lund, E. M., Khanna, C., Naramore, R., Patel, A., & Day, M. J. (2017). Obesity and Associated Comorbidities in People and Companion Animals: A One Health Perspective. *Journal of Comparative Pathology*, 156(4), 296–309
- Chang, S. C., Chang, C. C., Chang, T. J., & Wong, M. L. (2005). Prognostic factors associated with survival two years after surgery in dogs with malignant mammary tumors: 79 Cases (1998-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 227(10), 1625–1629.
- Cleary, M. P., Grossmann, M. E., & Ray, A. (2010). Effect of obesity on breast cancer development. *Veterinary Pathology*, 47(2), 202–213.
- Clemente M, Perez-Alenza MD, Illera JC, P. L. (2010). Histologic, immunologic and ultrastructural description of vasculogenic mimicry in canine mammary cancer. *Vet Pathol* 47 (3) , 265–274.
- Cohen, P., Clemmons, D. R., & Rosenfeld, R. G. (2000). Does the GH-IGF axis play a role in cancer pathogenesis? *Growth Hormone and IGF Research*, 10(6), 297–305.
- Concannon PW, Spraker TR, Casey HW. (1981). Gross and histopathologic effects of medroxyprogesterone acetate and progesterone on the mammary gland of adult beagle bitches. *Fertil Steril*, 36 (3);373-387.

- Coppack, S. W. (2001). Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proceedings of the Nutrition Society*, 60(3), 349–356.
- Costa, J. V., & Duarte, J. S. (2006). Tecido adiposo e adipocinas. *Acta Medica Portuguesa*, 19(3), 251–256.
- Costa, A., Oliveira, J. T., Gärtner, F., Kohn, B., Gruber, A. D., & Klopfleisch, R. (2011). Potential markers for detection of circulating canine mammary tumor cells in the peripheral blood. *Veterinary Journal*, 190(1), 165–168.
- Courcier, E. A., Thomson, R. M., Mellor, D. J., & Yam, P. S. (2010). An epidemiological study of environmental factors associated with canine obesity. *Journal of Small Animal Practice*, 51(7), 362–367.
- Christodoulatos, G. S., Spyrou, N., Kadillari, J., Psallida, S., & Dalamaga, M. (2019). The Role of Adipokines in Breast Cancer: Current Evidence and Perspectives. *Current Obesity Reports*, 8(4), 413–433.
- Daleck, C. R., De Nardi, A. B., & Rodaski, S. (2008). *Oncologia em Cães e Gatos*. (1th ed.). São Paulo: Roca
- Dinareello, C. A. (2014). An expanding role for interleukin-1 blockade from gout to cancer. *Molecular Medicine*, 20 (1), S43–S58.
- Feitosa A, F. L. F. (2016). Semiologia da Glândula Mamária de éguas, cadelas e gatas. Em *Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico*. (4th ed.) São Paulo: Roca. 349-352.
- Ferguson, H. R. (1985). Canine mammary gland tumors. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 15(3), 501–511.
- Fitzgibbons, P.L., Page, D.L., Weaver, D., Thor, A.D., Allred, D.C., Clark, G.M., Ruby, S.G., O'Malley, F., Simpson, J.F., Connolly, J.L., Hayes, D.F., Edge, S.B., Lichter, A., Schnitt, S.J., 2000. Prognostic factors in breast cancer. American Pathologists Consensus Statement 1999. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 124, 966–978
- Fowler, E. H., Wilson, G. P., & Koestner, A. (1974). Biologic Behavior of Canine Mammary Neoplasms Based on a Histogenetic Classification. *Veterinary Pathology*, 11(3), 212–229.
- German, A. J. (2006). The WALTHAM International Nutritional Sciences Symposia The Growing Problem of Obesity in Dogs and Cats. *J. Nutr*, 136(2), 1940–1946.
- German, A. J., Ryan, V. H., German, A. C., Wood, I. S., & Trayhurn, P. (2010). Obesity, its associated disorders and the role of inflammatory adipokines in companion animals. *Veterinary Journal*, 185(1), 4–9.
- Giles, R. C., Kwapien, R. P., Geil, R. G., & Casey, H. W. (1978). Mammary Nodules in Beagle Dogs Administered Investigational Oral Contraceptive Steroids. *Journal of the National Cancer Institute*, 60(6), 1351–1364.
- Glickman, L. T., Schofer, F. S., McKee, L. J., Reif, J. S., & Goldschmidt, M. H. (1989). Epidemiologic study of insecticide exposures, obesity, and risk of bladder cancer in household dogs. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 28(4), 407–414.

- Goldschmidt, M. H., Peña, L., Rasotto, R., & Zappulli, V. (2011). Classification and grading of canine mammary tumors. *Veterinary Pathology*, 48(1), 117–131.
- Graham, J. C., & Myers, R. K. (1999). The prognostic significance of angiogenesis in canine mammary tumors. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 13(5), 416–418.
- Gundim, L. F., de Araújo, C. P., Blanca, W. T., Guimarães, E. C., & Medeiros, A. A. (2016). Clinical staging in bitches with mammary tumors: Influence of type and histological grade. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 80(4), 318–322.
- Hadsell, D. L., & Bonnette, S. G. (2000). IGF and insulin action in the mammary gland: Lessons from transgenic and knockout models. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 5(1), 19–30.
- Haga, S., Nakayama, M., Tatsumi, K., Maeda, M., Imai, S., Umesako, S., ... Sarkar, N. H. (2001). Overexpression of the p53 gene product in canine mammary tumors. *Oncology Reports*, 8(6), 1215–1219.
- Hamper, B. (2016). Current Topics in Canine and Feline Obesity. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 46(5), 785–795.
- Hayashi, K., Piras, V., Tabata, S., Tomita, M., & Selvarajoo, K. (2013). A systems biology approach to suppress TNF-induced proinflammatory gene expressions. *Cell Communication and Signaling*, 11(1)25-40.
- Hermo, G. A., Torres, P., Ripoll, G. V., Scursoni, A. M., Gomez, D. E., Alonso, D. F., & Gobello, C. (2008). Perioperative desmopressin prolongs survival in surgically treated bitches with mammary gland tumours: A pilot study. *Veterinary Journal*, 178(1), 103–108.
- Hsu, W. L., Huang, H. M., Liao, J. W., Wong, M. L., & Chang, S. C. (2009). Increased survival in dogs with malignant mammary tumours overexpressing HER-2 protein and detection of a silent single nucleotide polymorphism in the canine HER-2 gene. *Veterinary Journal*, 180(1), 116–123.
- Ishioka, K., Omachi, A., Sagawa, M., Shibata, H., Honjoh, T., Kimura, K., & Saito, M. (2006). Canine adiponectin: cDNA structure, mRNA expression in adipose tissues and reduced plasma levels in obesity. *Research in Veterinary Science*, 80(2), 127–132.
- James, P. T., Leach, R., Kalamara, E., Shayeghi, M., Philip, T., Leach, R., & The, M. S. (2001). The world –wide obesity epidemic. *Obesity Research & Clinical Practice*, 9 (4), 228-233.
- Jardé, T., Caldefie-Chézet, F., Goncalves-Mendes, N., Mishellany, F., Buechler, C., Penault-Llorca, F., & Vasson, M. P. (2009). Involvement of adiponectin and leptin in breast cancer: Clinical and in vitro studies. *Endocrine-Related Cancer*, 16(4), 1197–1210.
- Jiménez-Garduño, A. M., Mendoza-Rodríguez, M. G., Urrutia-Cabrera, D., Domínguez-Robles, M. C., Pérez-Yépez, E. A., Ayala-Sumuano, J. T., & Meza, I. (2017). IL-1 $\beta$  induced methylation of the estrogen receptor ER $\alpha$  gene correlates with EMT and chemoresistance in breast cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 490(3), 780–785.

- Karayannopoulou, M., Kaldrymidou, E., Constantinidis, T. C., & Dessiris, A. (2001). Adjuvant Post-operative Chemotherapy in Bitches with Mammary Cancer. *Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine*, 48(2), 85–96.
- Karayannopoulou, M., & Lafioniatis, S. (2016). Recent advances on canine mammary cancer chemotherapy: A review of studies from 2000 to date. *Revue de Medecine Veterinaire*, 167(7–8), 192–200.
- Kaszak, I., Ruszczak, A., Kanafa, S., Kacprzak, K., Król, M., & Jurka, P. (2018). Current biomarkers of canine mammary tumors. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 60(1), 1–13.
- Kim, N. H., Lim, H. Y., Im, K. S., Shin, J. I., Kim, H. W., & Sur, J. H. (2014). Evaluation of clinicopathological characteristics and oestrogen receptor gene expression in oestrogen receptor-negative, progesterone receptor-positive canine mammary carcinomas. *Journal of Comparative Pathology*, 151(1), 42–50.
- Kristiansen, V. M., Peña, L., Díez Córdova, L., Illera, J. C., Skjerve, E., Breen, A. M., ... Sørenmo, K. U. (2016). Effect of Ovariohysterectomy at the Time of Tumor Removal in Dogs with Mammary Carcinomas: A Randomized Controlled Trial. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(1), 230–241.
- Laflamme, D. P. (2006). Understanding and Managing Obesity in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 36(6), 1283–1295.
- Lana, S.E., Rutteman, G.R., Withrow, S.J., 2007. Tumors of the mammary gland. In *Small Animal. Clinical Oncology*, (4<sup>th</sup> ed.) pp. 619- 636 St Louis, MO, USA: Saunders Elsevier,
- Larrosa, F. H., Maune, J. F., Erazzú, L. E., & Camadro, E. L. (2011). Research Paper. *Plant Biology*, 3(1). 16-24
- Lavalle, G. E., Bertagnolli, A. C., Tavares, W. L. F., & Cassali, G. D. (2009). Cox-2 expression in canine mammary carcinomas: Correlation with angiogenesis and overall survival. *Veterinary Pathology*, 46(6), 1275–1280.
- Laud, K., Gourdou, I., Pessemesse, L., Peyrat, J. P., & Djiane, J. (2002). Identification of leptin receptors in human breast cancer: Functional activity in the T47-D breast cancer cell line. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 188(1–2), 219–226.
- Lennon, H., Sperrin, M., Badrick, E., & Renehan, A. G. (2016). The Obesity Paradox in Cancer: a Review. *Current Oncology Reports*, 18(9), 1–8.
- Leong, T. Y., Hons, M., Cooper, K., Leong, A. S., & Pathol, F. (2010). *Immunohistology—Past, Present, and Future*. 17(6), 404–418.
- Li, J., & Han, X. (2018). Adipocytokines and breast cancer. *Current Problems in Cancer*, 42(2), 208–214.
- Lim, H. Y., Im, K. S., Kim, N. H., Kim, H. W., Shin, J. I., & Sur, J. H. (2015). Obesity, expression of adipocytokines, and macrophage infiltration in canine mammary tumors. *Veterinary Journal*, 203(3), 326–331.
- Lorincz, A. M., & Sukumar, S. (2006). Molecular links between obesity and breast cancer. *Endocrine-Related Cancer*, 13(2), 279–292.



- McGreevy, P. D., Thomson, P. C., Pride, C., Fawcett, A., Grassi, T., & Jones, B. (2005). Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors involved. *Veterinary Record*, 156(22), 695–702.
- Mantovani, A. (2009). Cancer: Inflaming metastasis. *Nature*, 457(7225), 36–37.
- Mantzoros, C., Petridou, E., Dessypris, N., Chavelas, C., Dalamaga, M., Alexe, D. M., ... Trichopoulos, D. (2004). Adiponectin and breast cancer risk. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(3), 1102–1107.
- Marconato, L., Lorenzo, R. M., Abramo, F., Ratto, A., & Zini, E. (2008). Adjuvant gemcitabine after surgical removal of aggressive malignant mammary tumours in dogs. *Veterinary and Comparative Oncology*, 6(2), 90–101.
- Marconato, L., Romanelli, G., Stefanello, D., Giacoboni, C., Bonfanti, U., Bettini, G., ... Zini, E. (2009). Prognostic factors for dogs with mammary inflammatory carcinoma: 43 cases (2003-2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 235(8), 967–972.
- Marinelli, L., Gabai, G., Wolfswinkel, J., & Mol, J. A. (2004). Mammary steroid metabolizing enzymes in relation to hyperplasia and tumorigenesis in the dog. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 92(3), 167–173.
- Matos, A. J. F., Baptista, C. S., Gärtner, M. F., & Rutteman, G. R. (2012). Prognostic studies of canine and feline mammary tumours: The need for standardized procedures. *Veterinary Journal*, 193(1), 24–31.
- Matos, A. J. F., Lopes, C., Carvalheira, J., Santos, M., Rutteman, G. R., & Gärtner, F. (2006). E-cadherin Expression in Canine Malignant Mammary Tumours: Relationship to Other Clinico-Pathological Variables. *Journal of Comparative Pathology*, 134(2–3), 182–189.
- Messinger, J. S., Windham, W. R., & Ward, C. R. (2009). Ionized hypercalcemia in dogs: A retrospective study of 109 cases (1998-2003). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(3), 514–519.
- Mobasheri, A., & Cassidy, J. P. (2010). Biomarkers in veterinary medicine: Towards targeted, individualised therapies for companion animals. *Veterinary Journal*, 185(1), 1–3.
- Mol, J. A., Lantinga-van Leeuwen, I. S., Selman, P. J., Oosterlaken-Dijksterhuis, M. A., Schalken, J. A., Rijnberk, A., ... Schalken, J. A. (1999). Mammary growth hormone and tumorigenesis – lessons from the dog. *Veterinary Quarterly*, 21(4), 111–115.
- Mol, J. A., Lantinga-van Leeuwen, I., Van Garderen, E., & Rijnberk, A. (2000). Progesterin-induced mammary growth hormone (GH) production. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 480, 71–76.
- Moulton, J.E. (Ed.).(1990). Tumors in domestic animals, Berkeley, (3th ed.). California: University of California
- Muto, T., Wakui, S., Takahashi, H., Maekawa, S., Masaoka, T., Ushigome, S., & Furusato, M. (2000). P53 Gene Mutations Occurring in Spontaneous Benign and Malignant Mammary Tumors of the Dog. *Veterinary Pathology*, 37(3), 248–253.

- Nakayama, S., Miyoshi, Y., Ishihara, H., & Noguchi, S. (2008). Growth-inhibitory effect of adiponectin via adiponectin receptor 1 on human breast cancer cells through inhibition of S-phase entry without inducing apoptosis. *Breast Cancer Research and Treatment*, 112(3), 405–410.
- Nieto, A., Peña, L., Pérez-Alenza, M. D., Sánchez, M. A., Flores, J. M., & Castaño, M. (2000). Immunohistologic detection of estrogen receptor alpha in canine mammary tumors: Clinical and pathologic associations and prognostic significance. *Veterinary Pathology*, 37(3), 239–247.
- Oberbauer, A. M., Belanger, J. M., & Famula, T. R. (2019). A Review of the Impact of Neuter Status on Expression of Inherited Conditions in Dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, 6 (397) 1-11.
- Otoni, C. C., Rahal, S. C., Vulcano, L. C., Ribeiro, S. M., Hette, K., Giordano, T., ... Amorim, R. L. (2010). Survey radiography and computerized tomography imaging of the thorax in female dogs with mammary tumors. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52(1), 6–9.
- Papa, A., Pirfo, C., & Murad, A. (2013). Impacto da obesidade no prognóstico do câncer de mama. *Revista Brasileira de Oncologia*, 9, 25–30.
- Patsikas M.N., Karayannopoulou M., Kaldrymidoy E., Papazoglou L.G., Papadopoulos P.L Tzegas S.I., Tziris N.E., Kaitzis D.G., Dimitriadis A.S. & Dessiris A.K. (2006). The lymph drainage of the neoplastic mammary glands in the bitch: a lymphographic study. *Anat. Histol Embryol*, 35 (4), 228-234.
- Pavelski, M., Silva, D. M., Leite, N. C., Junior, D. A., De Sousa, R. S., Guérios, S. D., & Dornbusch, P. T. (2015). Infrared Thermography in Dogs with Mammary Tumors and Healthy Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29(6), 1578–1583.
- Peña, L., De Andrés, P. J., Clemente, M., Cuesta, P., & Pérez-Alenza, M. D. (2012). Prognostic Value of Histological Grading in Noninflammatory Canine Mammary Carcinomas in a Prospective Study With Two-Year Follow-Up: Relationship With Clinical and Histological Characteristics. *Veterinary Pathology*, 50(1), 94–105.
- Peña, L., Gama, A., Goldschmidt, M. H., Abadie, J., Benazzi, C., Castagnaro, M., ... de las Mulas, J. M. (2014). Canine Mammary Tumors: A Review and Consensus of Standard Guidelines on Epithelial and Myoepithelial Phenotype Markers, HER2, and Hormone Receptor Assessment Using Immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*, 51(1), 127–145.
- Pereira C.T., Rahal S.C., Carvalho B.J.C., Ribeiro A.A., (2003). Lymphatic drainage on healthy and neoplastic mammary glands in female dogs: can it really be altered? *Anat Histol Embryol*, 32 (5), 282-290
- Philibert, J. C., Snyder, P. W., Glickman, N., Glickman, L. T., Knapp, D. W., & Waters, D. J. (2003). *Influence of Host Factors on Survival in Dogs with Malignant*. 17(1) 102–106.
- Pierini, A., Millanta, F., Zanforlin, R., Vannozzi, I., & Marchetti, V. (2017). Usefulness of cytologic criteria in ultrasound-guided fine-needle aspirates from subcentimeter canine mammary tumors. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 29(6), 869–873.










- Queiroga, F., Lopes, C. (2002). Tumores mamários caninos – Novas perspectivas. *Congresso de Ciências Veterinárias [Proceedings of the Veterinary Sciences Congress, 2002, SPCV, 3(2)*, 183–190.
- Rajala, M. W., & Scherer, P. E. (2003). Minireview: The adipocyte - At the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology, 144(9)*, 3765–3773.
- Raposo, T. P., Arias-Pulido, H., Chaher, N., Fiering, S. N., Argyle, D. J., Prada, J., ... Queiroga, F. L. (2017). Comparative aspects of canine and human inflammatory breast cancer. *Seminars in Oncology, 44(4)*, 288–300.
- Rivera, P., & von Euler, H. (2011). Molecular biological aspects on canine and human mammary tumors. *Veterinary Pathology, 48(1)*, 132–146.
- Rodaski S., De Nardi Ab. Fármacos naturais. Eds. Quimioterapia Antineoplásica em Cães e Gatos. (1th ed) São Paulo: Medvet., 96-109
- Rojas, K., & Stuckey, A. (2016). Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors. *Clinical Obstetrics Gynecology, 59(4)*, 651–672
- Romano, F. R., Heinze, C. R., Barber, L. G., Mason, J. B., & Freeman, L. M. (2016). Association between Body Condition Score and Cancer Prognosis in Dogs with Lymphoma and Osteosarcoma. *Journal of veterinary internal medicine, 30(4)*, 1179–1186
- Rossi, F., Sabattini, S., Vascellari, M., & Marconato, L. (2018). The impact of toceranib, piroxicam and thalidomide with or without hypofractionated radiation therapy on clinical outcome in dogs with inflammatory mammary carcinoma. *Veterinary and Comparative Oncology, 16(4)*, 497–504.
- Rybicka, A., & Król, M. (2016). Identification and characterization of cancer stem cells in canine mammary tumors. *Acta Veterinaria Scandinavica, 58(1)*, 1–7.
- Sánchez-Jiménez, F., Pérez-Pérez, A., de la Cruz-Merino, L., & Sánchez-Margalet, V. (2019). Obesity and Breast Cancer: Role of Leptin. *Frontiers in Oncology, 9(7)*, 1–12.
- Santos, A. A., & Matos, A. J. F. (2015). Advances in the understanding of the clinically relevant genetic pathways and molecular aspects of canine mammary tumours. Part 2: Invasion, angiogenesis, metastasis and therapy. *Veterinary Journal, 205(2)*, 144–153.
- Santos, A. A., Lopes, C. C., Ribeiro, J. R., Martins, L. R., Santos, J. C., Amorim, I. F., ... Matos, A. J. (2013). Identification of prognostic factors in canine mammary malignant tumours: A multivariable survival study. *BMC Veterinary Research, 9 (6)*, 1–11.
- Schneider, R., Dorn, C. R., & Taylor, D. O. N. (1969). Factors Influencing Canine Mammary Can-cer Development and Postsurgical Survival. *Journal Natural Cancer 43(2)*1249-1261.
- Shafiee, R., Javanbakh, J., Atyabi, N., Kheradmand, P., Kheradmand, D., Bahrami, A., Khadivar, F. (2016). Retraction to: Diagnosis, classification and grading of canine mammary tumours as a model to study human breast cancer: An Clinico-Cytopathological study with environmental factors influencing public health and medicine, 13. *Cancer Cell International, 16(1)*, 1–11

- Sherwood, L. M., Parris, E. E., & Folkman, J. (1971). Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *The New England journal of medicine*, 1(4) 1182–1186.
- Simon, D., Schoenrock, D., Nolte, I., Baumgärtner, W., Barron, R., & Mischke, R. (2009). Cytologic examination of fine-needle aspirates from mammary gland tumors in the dog: Diagnostic accuracy with comparison to histopathology and association with postoperative outcome. *Veterinary Clinical Pathology*, 38(4), 521–528.
- Skegg, D. C. G. (1995). Risk assessment issues in breast cancer. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 333(1–2), 51–58.
- Sleeckx, N., Van Brantegem, L., Van den Eynden, G., Fransen, E., Casteleyn, C., Van Cruchten, S., Van Ginneken, C. (2014). Lymphangiogenesis in canine mammary tumours: A morphometric and prognostic study. *Journal of Comparative Pathology*, 150(2–3), 184–193.
- Sonnenschein, E. G., Glickman, L. T., Goldschmidt, M. H., & Mckee, L. J. (1991). Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: A case-control study. *American Journal of Epidemiology*, 133(7), 694–703.
- Sorenmo, K. (2003). Canine mammary gland tumors. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 33(3), 573–596.
- Sorenmo, K. U., Durham, A. C., Kristiansen, V., Pena, L., Goldschmidt, M. H., & Stefanovski, D. (2019). Developing and testing prognostic bio-scoring systems for canine mammary gland carcinomas. *Veterinary and Comparative Oncology*, 17(4), 479–488.
- Subramani, R., Nandy, S. B., Pedroza, D. A., & Lakshmanaswamy, R. (2017). Role of growth hormone in breast cancer. *Endocrinology*, 158(6), 1543–1555.
- Takahata, C., Miyoshi, Y., Irahara, N., Taguchi, T., Tamaki, Y., & Noguchi, S. (2007). Demonstration of Adiponectin Receptors 1 and 2 mRNA expression in human breast cancer cells. *Cancer Letters*, 250(2), 229–236.
- Tesi, M., Millanta, F., Poli, A., Mazzetti, G., Pasquini, A., Panzani, D., Rota, A., & Vannozzi, I. (2020). Role of body condition score and adiponectin expression in the progression of canine mammary carcinomas. *Veterinary Medicine and Science*, 1(3) 1–7.
- Thumser-Henner, P., Nytko, K. J., & Rohrer Bley, C. (2020). Mutations of BRCA2 in canine mammary tumors and their targeting potential in clinical therapy. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 1–9.
- Tokuda, E., Horimoto, Y., Arakawa, A., Himuro, T., Senuma, K., Nakai, K., & Saito, M. (2017). Differences in Ki67 expressions between pre- and post-neoadjuvant chemotherapy specimens might predict early recurrence of breast cancer. *Human Pathology*, 63 (5), 40–45.
- Üstün Alkan, F., Üstüner, O., Bakirel, T., Çinar, S., Erten, G., & Deniz, G. (2012). The effects of piroxicam and deracoxib on canine mammary tumour cell line. *The Scientific World Journal*, 2012.(17)1-8.

- Völker, H. U., Weigel, M., Strehl, A., & Frey, L. (2018). Levels of uPA and PAI-1 in breast cancer and its correlation to Ki67-index and results of a 21-multigene-array. *Diagnostic Pathology*, 13(1), 1–8.
- W.Beauvais, J. M. C. and D. C. B. (2012). Jsap\_1220.Indd. *Journal of Small Animal Practice*, 53(6), 1–9.
- Weeth, L. P., Fascetti, A. J., Kass, P. H., Suter, S. E., Santos, A. M., & Delaney, S. J. (2007). *American Journal Veterinary Research*, 68(4), 389–398.
- Withrow, S. J., Vail, D. M., & Page, R. L. (2013). *Small Animal Clinical Oncology (5<sup>th</sup> ed)*. St Louis, Missouri: Elsevier
- Yamagami, T, Kobayashi, T, Takahashi, K & S (1996). Prognosis for canine malignant mammary tumors based on the TNM and histologic classification. *J Vet Med Sci*, 58(7)(43), 1079–83.
- Yang, M., Liu, F., Higuchi, K., Sawashita, J., Fu, X., Zhang, L., ... Higuchi, K. (2016). Serum amyloid A expression in the breast cancer tissue is associated with poor prognosis. *Oncotarget*, 7(24), 35843–35852.
- Yoshikawa, Y., Morimatsu, M., Ochiai, K., Ishiguro-Oonuma, T., Wada, S., Orino, K., & Watanabe, K. (2015). Reduced canine BRCA2 expression levels in mammary gland tumors. *BMC Veterinary Research*, 11(1), 1–8.
- Zahid, H., Simpson, E. R., & Brown, K. A. (2016). Inflammation, dysregulated metabolism and aromatase in obesity and breast cancer. *Current Opinion in Pharmacology*, 31(4), 90–96.

## Anexo I: Tabela de classificação da condição corporal de cães

Utilize esta tabela para acompanhamento e manutenção do peso

<b>SUBALIMENTADO</b>	<b>1</b>	Costelas, vértebras lombares, ossos pélvicos e todas as saliências ósseas visíveis à distância. Não há gordura corporal aparente. Perda evidente de massa muscular.	
	<b>2</b>	Costelas, vértebras lombares e ossos pélvicos facilmente visíveis. Não há gordura palpável. Algumas outras saliências ósseas podem estar visíveis. Perda mínima de massa muscular.	
	<b>3</b>	Costelas facilmente palpáveis podem estar visíveis sem gordura palpável. Visível o topo das vértebras lombares. Os ossos pélvicos começam a ficar visíveis. Cintura e reentrância abdominal evidentes.	
<b>IDEAL</b>	<b>4</b>	Costelas facilmente palpáveis com mínima cobertura de gordura. Vista de cima, a cintura é facilmente observada. Reentrância abdominal evidente.	
	<b>5</b>	Costelas palpáveis sem excessiva cobertura de gordura. Cintura observada por trás das costelas, quando vista de cima. Abdômen retraído quando visto de lado.	
<b>SOBREALIMENTADO</b>	<b>6</b>	Costelas palpáveis com leve excesso de cobertura gordura. A cintura é visível quando observada de cima, mas não é acentuada. Reentrância abdominal aparente.	
	<b>7</b>	Costelas palpáveis com dificuldade. Pesada cobertura de gordura. Depósitos de gordura evidentes sobre a área lombar e base da cauda. Ausência de cintura ou apenas visível. A reentrância abdominal pode estar presente.	
	<b>8</b>	Impossível palpar as costelas situadas sob cobertura de gordura muito densa ou palpáveis somente com pressão acentuada. Pesados depósitos de gordura sobre a área lombar e base da cauda. Cintura inexistente. Não há reentrância abdominal. Poderá existir distensão abdominal evidente.	
	<b>9</b>	Maciços depósitos de gordura sobre o tórax, espinha e base da cauda. Depósitos de gordura no pescoço e membros. Distensão abdominal evidente.	

O SISTEMA DE AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO CORPORAL foi desenvolvido no Centro Nestlé Purina de Pesquisa e Desenvolvimento (Nestlé Purina Pet Care Center) e foi validado tal como documentado nas seguintes publicações:

Mawby D, Barlges JW, Mayers T, et al. *Comparison of body fat estimates by dual-energy x-ray absorptiometry and deuterium oxide dilution in client owned dogs.* Compendium 2001; 23 (9A): 70

Laflamme DP. *Development and Validation of a Body Condition Score System for Dogs.* Canine Practice July/August 1997; 22:10-15

Kealy, et al. *Effects of Diet Restriction on Life Span and Age-Related Changes in Dogs.* JAVMA 2002; 220:1315-1320

 **Nestlé PURINA**

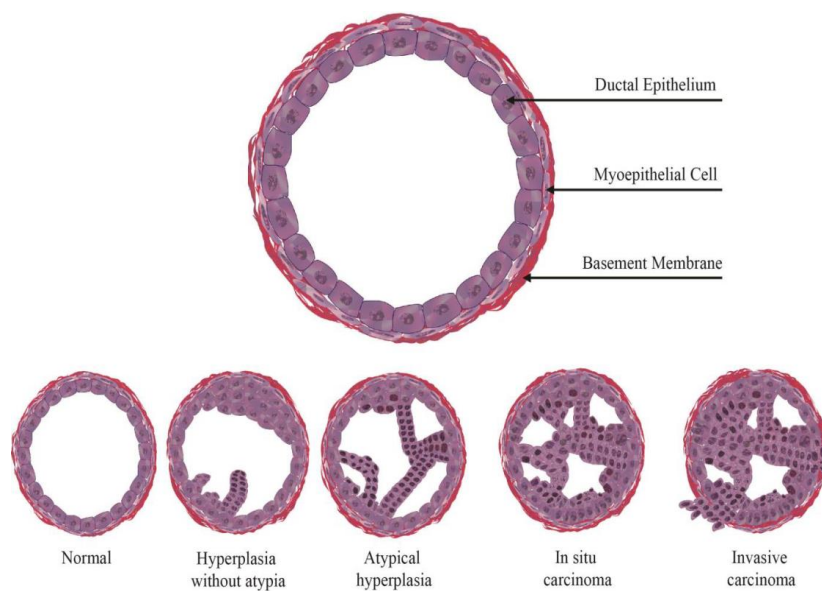
## Anexo II: Classificação Histológica dos Tumores Mamários (Goldschmidt et al., 2011)

<b>1: Tumores Malignos Epiteliais</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinoma in situ</li> <li>• Carcinoma Simples</li> <li>a. Tubular</li> <li>b. Tubulo-papilar</li> <li>c. Cístico- papilar</li> <li>d. Cribriforme</li> <li>• Carcinoma Micropapilar Invasivo</li> <li>• Carcinoma Sólido</li> <li>• Comedocarcinoma</li> <li>• Carcinoma Anaplásico</li> <li>• Carcinoma decorrente de adenoma complexo/ tumor misto—A contraparte benigna ainda é detectável no corte</li> <li>• Carcinoma—complexo : componente epitelial maligno e componente mioepitelial benigno.</li> <li>• Carcinoma e mioepitelioma maligno— Componente epitelial e mioepitelial são malignos</li> <li>• Carcinoma misto — O componente epitelial é maligno; componente mesenquimal mioepitelial é benigno; e componente mesenquimal é cartilagem ou osso.</li> <li>• Carcinoma ductal – contraparte maligna do adenoma ductal</li> <li>• Carcinoma Papilar intra-ductal – Contraparte maligna do adenoma papilar intra-ductal</li> </ul>
<b>2: Tumores Epiteliais Malignos – Tipos Especiais</b>
Carcinoma de Células Escamosas Carcinoma Adenoescamoso Carcinoma Mucinoso Carcinoma (secretório) rico em lipídios Carcinoma de Células Fusiformes Mioepitelioma Maligno Carcinoma espinocelular - variante de célula fusiforme Carcinoma Inflamatório
<b>3: Tumores Malignos Mesenquiais —Sarcomas</b>
Osteosarcoma Condrosarcoma Fibrosarcoma Hemangiosarcoma Outros sarcomas
<b>4: Carcinosarcoma— Tumor Mamário misto maligno</b>
<b>5: Tumores Benignas</b>
Adenoma simples Adenoma Papilar Intraductal Adenoma Ductal - Com diferenciação escamosa (grânulos de querato-hialina) Fibroadenoma Mioepitelioma Adenoma Complexo (adenomioepitelioma) Tumor Benigno misto
<b>6: Hyperplasia/Dysplasia</b>
Ectasia do Ducto Hiperplasia Ductal <ul style="list-style-type: none"> <li>- Regular</li> <li>- Com atividade Secretória</li> <li>- Com fibrose - tecido conjuntivo fibroso interlobular</li> <li>- Com Atipia</li> </ul> Epiteliose Papilomatose Alteração fibroadenomatosa Ginecomastia
<b>7: Tumores do Mamilo</b>
Adenoma Carcinoma

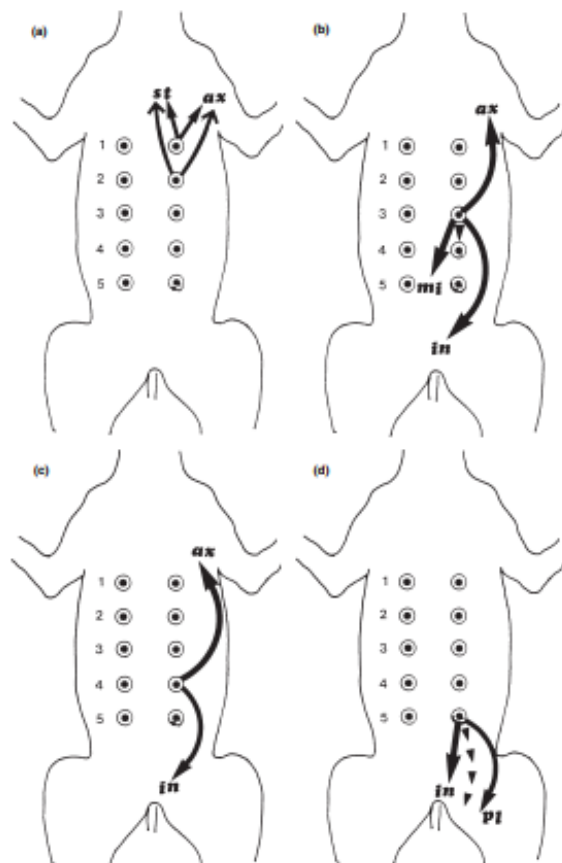
Carcinoma com infiltração epidermal
8: Hiperplasia / Displasia do Mamiló
Melanose da pele e do mamilo



**Anexo III:** Glândula Mamária canina - ducto normal e evolução de lesões proliferativas (Goldschmidt et al., 2011)



#### Anexo IV: Drenagem linfática da cadeia mamária das cadelas



Legenda: Representação esquemática da drenagem linfática das glândulas mamárias torácicas, craniais e caudais(a), das glândulas abdominais craniais (b), das abdominais caudais (c) e das inguinais (d). Na imagem são representadas as glândulas mamárias torácicas craniais (1), torácicas caudais (2), abdominais craniais (3), abdominais caudais (4) e inguinais (5), linfonodos axilares (ax), linfonodos esternais (st), linfonodos íliacos mediais (mi), linfonodos inguinais superficiais (in) e os linfonodos poplíteos (pl) (Patsikas et al., 2006)

## Anexo V: Protocolos de Quimioterapia

Protocolo- Doxorrubicina e Ciclofosfamida,( Cassali et al., 2014)

Dia	Doxorrubicina	Ciclosfosfamida
1º	X	
3º,4º,5º,6º		X
22º	Repetir o ciclo a cada 21 dias, 3 a 6 vees no total.	
<b>Posologia</b>		
Doxorrubicina: 30mg/ m2/ IV ou 1mg/ kg/ IV (para cães com < 10kg).		
Ciclofosfamida: 50mg/ m2/ oral		

Protocolo-Gemcitabina e Carboplatina, (Cassali et al., 2014)

Protocolo Gemcitabina e Carboplatina, (Cassini et al, 2017)		
Dia	Gemcitabina	Carboplatina
1º	X	X
8º	X	
22º	Repetir o ciclo a cada 21 dias - 3 a 6 vezes no total.	
Posologia		
Gemcitabina: 200mg/m2/IV, por 20 minutos, 4 horas antes da carboplatina.		
Carboplatina: 10mg/kg /IV, por 20 minutos.		

Protocolo –Carboplatina, (Cassali et al., 2014)

Dia	Carboplatina
1º	X
22º	Repetir o ciclo, cada 21 dias, 3 a 6 vezes total.
<b>Posologia</b>	
Carboplatina: 250 a 300mg/ m2/ IV, cada 21 dias.	

Protocolo -Doxorrubicina e Carboplatina (mais apropriado em carcinossarcomas), (Cassali et al., 2014)

Dia	Doxorrubicina	Carboplatina
1º	X	
15º		X
22º	Administrar a doses intercaladamente a cada 2 ou 3 semanas, totalizando 3 administrações de cada um.	
Posologia		
Doxorrubicina: 30mg/ m2/ IV ou 1mg/ kg/ IV (para cães com < 10kg).		
Carboplatina: 250 a 300mg/ m2/ IV, cada 21 days.		

Protocolo Paclitaxel,( Cassali et al., 2014)

Dia	Paclitaxel
1º	X
22º	Administrar a dose a cada 21 dias, 3 a 6 vezes ao total.
<b>POSOLOGIA</b>	
Paclitaxel: 170mg/ m2/ IV ou 5mg/ kg/ IV	
Pré medicar pacientes com dexametasona ou difenidramina 3 dias antes e depois da infusão de quimioterapia para minimizar ocorrências de reações de hipersensibilidade.	

Protocolo: Inibidor de Cox-2, (Cassali et al., 2014)

<b>Posologia</b>	
Firocoxibe: 5 mg/kg /oral – cada 24 hs ou	
Piroxicam: 0,3 mg/Kg/ oral - cada 24 hs ou	
Administrar por 6 meses consecutivos , com monitorização da função renal e hemograma mensalmente	